

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ANTAGONISME MICROBIEN ET « BACTÉRIOPHAGIE »,

par ANDRÉ GRATIA.

Avant-Propos.

Ce mémoire a été rédigé en août 1926. Diverses circonstances en ont différé la publication. Il comporte trois parties. Dans la première j'ai étudié un cas typique d'antagonisme entre deux souches de microbes de même espèce, le *Coli* V et le *Coli* ϕ . Dans la seconde, j'ai suivi la façon dont le *Coli* V sécrète son principe antagoniste du *Coli* ϕ . Dans la troisième, j'ai montré le parallélisme entre cette sécrétion et le pouvoir lysogène du *Coli* de Lisbonne et Carrère.

Pendant longtemps, je n'ai plus pu reproduire les expériences sur l'antagonisme entre le *Coli* V et le *Coli* ϕ pour la raison que, par un de ces caprices familiers aux variations microbiennes, la souche de *Coli* V que j'ai conservée ne sécrétait plus la substance inhibitrice si remarquablement active qu'elle développait jadis contre la croissance du *Coli* ϕ . Tout récemment, elle a récupéré cette propriété spontanément. Ce fait — que j'avais prévu comme on le verra — a sa portée et attire notre attention sur l'importance que peuvent avoir les variations

microbiennes dans les divergences de résultats observées par différents chercheurs, surtout dans une question comme la bactériophagie où les variations microbiennes jouent un rôle si prépondérant.

Première partie.

Dans une note parue dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie* [1], j'ai signalé le fait que voici : Un *B. coli* très virulent pour le lapin et le cobaye, et d'ailleurs isolé du sang du cœur d'un lapin mort à la fin d'une épidémie, produit en abondance, dans des cultures en bouillon, une substance extrêmement toxique pour un autre *B. coli* et aussi, à un plus faible degré, pour le bacille de Shiga. Pour la facilité de l'exposé, appelons la bactérie toxigène, le *Coli V* et la bactérie sensible, le *Coli* φ .

ANTAGONISME DU « COLI V » ET DU « COLI φ ».

EXPÉRIENCE I. — On ensemence un petit ballon contenant 50 cent. cubes de bouillon ordinaire (pH 7,4) avec le *Coli V*. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture est divisée en deux portions : la première est filtrée sur bougie Chamberland L3, la seconde chauffée à 58°. On vérifie la stérilité des deux portions, l'une filtrée et l'autre chauffée, et l'on verse X gouttes respectivement de chacune d'elles dans deux tubes de bouillon. On ensemence ensuite ceux-ci, ainsi qu'un tube de bouillon témoin, avec 1 goutte d'une culture fraîche de *Coli* φ . Tandis que le dernier tube commence à se troubler, après deux heures, et donne une culture normale, les deux premiers restent tout à fait limpides pendant longtemps et ne commencent à se troubler qu'après une dizaine d'heures, pour donner finalement une culture d'aspect normal également.

Jusqu'à quelle dilution le principe V manifeste-t-il ses propriétés inhibitrices?

EXPÉRIENCE II. — A un tube contenant 4 à 5 cent. cubes de bouillon, on ajoute 0 c. c. 5, c'est-à-dire X gouttes de culture chauffée ou filtrée de *Coli V*. Après mélange, on prélève 0 c. c. 5 de cette première dilution au 1/10 que l'on verse dans un second tube de bouillon. L'on continue ainsi une série de cinq tubes de dilutions de dix en dix fois plus grandes, qu'on ensemence, ainsi qu'un tube de bouillon témoin, avec 1 goutte de *Coli* φ . Comme dans l'expérience précédente, l'inhibition se prolonge pendant une dizaine d'heures dans le premier tube ; très longue encore dans le second tube, elle se raccourcit sensiblement dans le troisième et disparaît totalement dans le quatrième tube.

L'activité du principe V se manifeste donc jusqu'à une dilution au 1/1.000. Pratiquement, on peut dire que, dans un tube de 5 cent. cubes de bouillon, une goutte, c'est-à-dire une dilution au 1/100 de principe V, inhibe la culture de *Coli* φ pendant six à huit heures. Comment se fait-il que, malgré la grande toxicité du principe V, une culture de *Coli* φ finisse par se développer en sa présence?

PRODUCTION DE CULTURES SECONDAIRES DE « B. COLI φ » RÉSISTANTS.

EXPÉRIENCE III. — Ensemençons avec le *Coli* φ , deux tubes de bouillon dont le second contient X gouttes de principe V. Bien que dans le second tube le *Coli* φ pousse avec un grand retard, nous avons, au bout de trente-six heures, deux cultures de *Coli* φ , l'une normale, et l'autre ayant vaincu l'action inhibitrice prolongée du principe V au 1/10. Isolons chacune de ces deux cultures et le lendemain repiquons en bouillon une colonie isolée de chacune d'elles. Les deux cultures obtenues sont alors soumises à l'action du principe V. Tandis que la première, c'est-à-dire la culture isolée de φ normal, subit l'action inhibitrice du principe V, la seconde ne la subit pas du tout et pousse aussi rapidement que la culture témoin.

Au même titre que le bactériophage, le principe V voit son action inhibitrice surmontée par le développement de microbes résistants. C'est d'ailleurs ce que l'on observe également de façon plus objective lorsqu'on étudie le phénomène sur gélose (fig. 1 et 2).

EXPÉRIENCE IV. — On place à 37° quatre tubes de gélose ensemencés avec une jeune culture de *Coli* φ . Trois heures après, on dépose, au milieu de la surface de chacune de ces quatre cultures, 1 goutte de principe V, respectivement, pur, dilué au 1/10, au 1/100 et au 1/1.000. Le lendemain, on constate que, sur le premier tube, la goutte de principe pur a laissé la marque de son passage sous forme d'une trainée de clarification nette où rien n'a poussé, sauf quelques très rares colonies résistantes; dans le second tube, le nombre de ces colonies est beaucoup plus grand; dans le troisième, elles sont confluentes et dans le quatrième il n'y a plus trace de la moindre activité du principe.

A mesure que le principe V est plus dilué, le nombre d'individus de *Coli* φ , capables de lui résister, augmente. Le *Coli* présente donc tous les degrés de sensibilité ou de résistance à l'action du principe V, comme à celle du bactériophage. C'est d'ailleurs ce que l'expérience suivante confirme.

EXPÉRIENCE V. — On reprend les trois premiers tubes de gélose de l'expérience précédente. Sur la trainée de clarification laissée par la goutte de principe V, les colonies résistantes, très rares dans le premier tube, sont de plus en plus nombreuses dans les tubes suivants, à mesure que le principe déposé est plus dilué. On repique en bouillon une colonie résistante prélevée sur chacun des trois tubes. On obtient ainsi trois cultures de microbes ayant résisté à du principe de plus en plus faible. On soumet chacune de ces cultures à l'action de principe V pur, dilué au $1/10$, dilué au $1/100$. Tandis que



FIG. 1. — EXP. VI. — Trainée de principe V sur culture de *Coli* ϕ . Quelques colonies résistantes au principe V.



FIG. 2. — Trainée de bactériophage sur culture de *Coli* ϕ . Quelques colonies résistantes au bactériophage.

la première culture résiste au principe à toutes les concentrations, la seconde résiste au principe dilué au $1/100$ et au $1/10$, mais est inhibée par le principe pur; la troisième, enfin, supporte le principe dilué au $1/100$, mais est inhibée par le principe dilué au $1/10$ et à plus forte raison par le principe pur.

Déposé à la surface d'une jeune culture de *Coli* ϕ sur gélose, le principe V laisse une trainée de clarification constellée de colonies résistantes et ressemblant à s'y méprendre à la trainée

de clarification bien connue laissée par le bactériophage. On peut se demander si les colonies résistantes au principe V le sont également au bactériophage et réciproquement. L'expérience suivante montre qu'il n'en est rien.

EXPÉRIENCE VI. — On laisse pendant trois heures à 37° deux tubes de géloseensemencés avec du *Coli* ϕ , puis on verse au milieu de la surface de chacun d'eux respectivement 1 goutte de principe V et 1 goutte d'un bactériophage très actif pour le *Coli* ϕ . Le lendemain, l'aspect des deux tubes est absolument identique. On repique en bouillon une colonie résistante du premier tube, qui a subi l'action du principe V, et une colonie résistante du second tube qui a subi l'action du bactériophage. Le jour suivant, on essaie sur chacune de ces cultures l'action du principe V et du bactériophage. La première résiste au principe V, mais est sensible au bactériophage; la seconde, au contraire, résiste au bactériophage, mais est sensible au principe V.

RÉSISTANCE DU PRINCIPE V A LA CONSERVATION ET A LA CHALEUR.

Le principe V est très stable et résiste à la conservation. Le principe V est aussi remarquablement thermostable et ne commence à s'altérer légèrement qu'après un chauffage d'une demi-heure à 120°.

EXPÉRIENCE VII. — On ensemence 50 cent. cubes de bouillon avec du *Coli* V. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture est filtrée et répartie en plusieurs tubes scellés que l'on conserve à la température du laboratoire. On ouvre ces tubes à divers intervalles de temps, pour en essayer l'activité. Après plusieurs mois de conservation, le principe est encore actif.

EXPÉRIENCE VIII. — On immerge, pendant une demi-heure, cinq ampoules scellées contenant chacune 1 cent. cube de principe V, dans des bains-marie maintenus respectivement aux températures de 58°, 65°, 80°, 100° et à l'autoclave à 120°. Après ce traitement, on essaie l'activité du contenu de chacune de ces ampoules et constate qu'elle est restée parfaitement intacte dans les quatre premières ampoules. Dans la cinquième, qui a été placée pendant une demi-heure à l'autoclave à 120°, l'activité, quoique légèrement atténuée, est encore bien nette.

ESSAIS DE PURIFICATION DU PRINCIPE V.

Avec l'aide obligeante de M^{lle} D. Doyle, j'ai entrepris un essai sommaire de purification du principe V. Voici le résultat de nos tentatives.

EXPÉRIENCE IX. — On ajoute dix volumes d'alcool absolu à 5 cent. cubes de principe V. Il se fait un précipité qu'on laisse se former complètement pen-

dant vingt-quatre heures et dont on achève alors la sédimentation par quelques tours de turbine. On décante le liquide surnageant qu'on évapore à siccité dans le vide. On redissout le léger résidu dans 5 cent. cubes d'eau physiologique qu'on filtre ensuite sur bougie Chamberland L3. Quant au précipité, après un lavage avec quelques centimètres d'alcool absolu, puis, après dessiccation dans le vide, on le redissout dans 5 cent. cubes d'eau physiologique et on le filtre sur bougie L3. On essaie ensuite l'activité des deux filtrats, l'un contenant la portion soluble et l'autre la portion insoluble dans l'alcool. Toutes les deux sont également inactives.

Nous avons été plus heureux avec l'acétone.

EXPÉRIENCE X. — On procède comme dans l'expérience précédente, mais en utilisant de l'acétone au lieu d'alcool. Dans ce cas, la partie soluble dans l'acétone est inactive, mais la partie insoluble est aussi active que le principe non traité. Si la partie insoluble dans l'acétone et active est traitée par de l'alcool absolu avant d'être remise en solution dans l'eau physiologique, elle perd complètement son pouvoir inhibiteur à l'égard du *Coli* ϕ .

Il résulte de ces essais qu'à l'exemple du bactériophage, le principe V peut être entraîné à l'état actif par le précipité formé par l'acétone, mais est, par contre, détruit par l'alcool absolu.

RÉSISTANCE DU PRINCIPE V A LA QUININE.

Comment se comporte-t-il à l'égard des sels neutres de quinine qui, à la dose de 1 p. 100, d'après les recherches de Pozerski et Eliava, détruisent le bactériophage?

EXPÉRIENCE XI. — On ajoute 0 c. c. 5 d'une solution stérile de chlorhydrate de quinine à 10 p. 100, à deux tubes contenant, l'un, 4 c. c. 5 de bouillon et l'autre de principe V. Dans les deux tubes, il se forme un léger trouble qui, le lendemain, après vingt-quatre heures de séjour à 37°, s'est déposé au fond des tubes. A six tubes de bouillon, on ajoute respectivement X gouttes et 1 goutte de bouillon quinquiné, X gouttes et 1 goutte de principe V quinquiné, X gouttes et 1 goutte de principe V normal. On ensemence ensuite tous ces tubes ainsi qu'un tube témoin, avec 1 goutte de *Coli* ϕ . Après quelques heures, on constate que le bouillon quinquiné ne retarde pas la culture, c'est-à-dire qu'à cette concentration, la quinine mise en jeu n'a aucune action inhibitrice propre; par contre, le principe V quinquiné est tout aussi inhibiteur que le principe normal.

Le chlorhydrate de quinine à 1 p. 100 n'altère donc nullement le principe V après vingt-quatre heures de contact.

DIFFUSIBILITÉ ET ULTRAFILTRATION DU PRINCIPE V.

Le principe V est extrêmement diffusible ainsi qu'il ressort des expériences suivantes (fig. 3):

EXPÉRIENCE XII. — Au centre d'une boîte de Pétri contenant de la gélose, on ensemence par piqûre une trace de *Coli* V. Après vingt-quatre heures à 37°, il s'est développé à l'endroit ensemencé une colonie qu'on enlève, complètement et bien stérilement, à l'emporte-pièce. On ensemence alors toute la surface de la gélose, en y faisant ruisseler une culture en bouillon de *Coli* ϕ . La boîte de Pétri, placée ensuite à l'étuve à 37°, la surface de la gélose tournée vers le bas, offre le lendemain un aspect tout à fait démonstratif. Le *Coli* ϕ a poussé partout, sauf sur un cercle de 3 cent. de

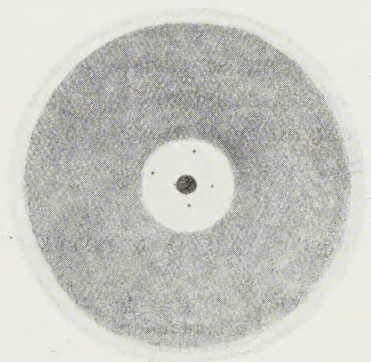


FIG. 3. — Exp. XII. — Culture de *Coli* ϕ sur boîte de Petri, au centre, colonie de *Coli* V, avec zone de diffusion du principe inhibiteur dans laquelle quelques colonies résistantes de *Coli* ϕ .

diamètre, dont le centre est occupé par l'endroit où le *Coli* V avait poussé et d'où le principe V avait largement et régulièrement diffusé tout autour.

Cette diffusibilité du principe V lui permet de traverser une fine membrane de cellophane, imperméable au *Coli* V lui-même. Pour la démonstration, faisons l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE XIII. — On verse 40 cent. cubes de bouillon dans le fond d'une boîte de Pétri. On recouvre celle-ci d'une mince feuille de cellophane débordant le pourtour de la boîte et sensiblement déprimée en son centre de façon à lui donner une concavité dans laquelle on verse également 5 cent. cubes de bouillon. L'on a ainsi 2 couches de bouillon séparées par la feuille de cellophane. On fixe ensuite le pourtour de celle-ci simplement en posant le couvercle de la boîte et stérilise le tout à 120°. Après refroidissement, on

ensemence avec le *Coli* V la couche supérieure de bouillon. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture a poussé dans cette couche supérieure et n'a pas pénétré dans la couche inférieure, mais y a laissé abondamment diffuser son principe actif, ainsi qu'on peut aisément le vérifier.

Signalons, en passant, que ce dispositif très simple m'a d'ailleurs permis d'observer que le bactériophage diffuse semblablement à travers une membrane de « cellophane ». La première fois que j'ai observé l'action inhibitrice du principe V, j'ai pensé — tant la similitude du phénomène en bouillon et surtout sur gélose est grande — qu'il s'agissait de bactériophage et que le *Coli* V était un *Coli* lysogène semblable à ceux étudiés par Lisbonne et Carrère. Si cette analogie paraît confirmée par l'égale diffusibilité du principe V et du bactériophage, par la précipitation sous forme active par l'acétone et la destruction par l'alcool; en revanche, sa résistance à des températures aussi élevées que 120°, sa résistance à la quinine, et surtout sa non-régénérabilité comme nous allons le voir, écarte complètement toute confusion.

LE PRINCIPE V NE SE RÉGÈNÈRE PAS.

EXPÉRIENCE XIV. — On verse X gouttes de principe V dans un tube de bouillon ensemencé de *Coli* ϕ . Le lendemain, on filtre la culture qui s'est développée après avoir subi une inhibition d'une dizaine d'heures. On verse X gouttes de ce filtrat dans un second tube de bouillon ensemencé de *Coli* ϕ . Le lendemain, on filtre cette culture qui a subi une inhibition de six à huit heures. On verse X gouttes de ce filtrat dans un troisième tube ensemencé de *Coli* ϕ . Cette fois, l'inhibition est beaucoup plus courte. Après vingt-quatre heures, on filtre cette troisième culture et on verse X gouttes dans un quatrième tube ensemencé de *Coli* ϕ . On n'observe plus la moindre inhibition.

Au quatrième passage, l'action du principe V a disparu par dilution et de façon définitive, car elle ne reparait plus dans la suite, même si on continue les passages un grand nombre de fois. Peut-être arriverait-on à un résultat positif si au cours des passages on maintenait une cohabitation du *Coli* ϕ et du *Coli* V. Mais l'essai réalisé dans l'expérience suivante n'a pas été plus heureux.

EXPÉRIENCE XV. — On ensemence un tube de bouillon avec une goutte d'une culture fraîche de *Coli* ϕ . Après deux à trois heures à 37°, le bouillon commence à former un trouble bien net. On ajoute alors X gouttes de principe V

et une trace de *Coli* V. Le développement de la culture s'interrompt pendant quelque temps, mais, le lendemain, le bouillon est complètement trouble et offre l'aspect d'une culture de *Coli* V, celui-ci ayant évidemment pris le dessus sur le *Coli* φ . On filtre ce premier tube et ajoute X gouttes du filtrat ainsi qu'une trace de *Coli* V à une nouvelle culture de *Coli* φ âgée de deux à trois heures, avec le même résultat que la veille. On continue ces passages quotidiens au cours desquels *Coli* V et *Coli* φ sont en conflit permanent, pendant vingt jours consécutifs. A partir de ce moment, on continue les passages sans plus aucune addition de *Coli* V, comme dans l'expérience précédente, avec le même résultat négatif d'ailleurs.

Le principe V, très toxique pour le *Coli* φ , l'est également à un plus faible degré pour le Shiga. Aussi ai-je répété les deux dernières expériences en remplaçant le *Coli* φ par le bacille de Shiga, sans plus de succès. Il n'y a donc aucun doute, le principe V n'est pas du bactériophage, c'est un produit du métabolisme du *Coli* V, très toxique pour le *Coli* φ , le bacille de Shiga, pour d'autres encore peut-être et inoffensif pour les nombreux autres microbes que j'ai essayés. Comme conséquence de cette absence de régénération, le principe V — nous l'avons vu — supporte beaucoup moins bien la dilution que le bactériophage. Celui-ci, même à la concentration infime d'un milliardième, ne tarde pas à récupérer son maximum de concentration et d'activité. L'action du principe V, au contraire, s'éteint définitivement dès la dilution à 1/100. Semblablement, lorsque le bactériophage est trop dilué pour former encore une trainée de clarification confluyente sur une culture en gélose, son action se manifeste cependant encore par des clarifications localisées à certains endroits, sous forme de taches vierges parfaitement circulaires et d'autant moins nombreuses que le bactériophage est plus dilué. Le principe V, lui, lorsqu'il est trop dilué pour faire encore une trainée de clarification appréciable, ne peut pas former de tache. Sans doute, même à une dilution inférieure au 1/1.000, peut-il encore agir s'il rencontre des individus de *Coli* φ suffisamment sensibles pour subir son action, mais celle-ci, ne pouvant de là rebondir, se limite à cet individu microscopique dont l'arrêt de développement échappe forcément à nos sens. On peut cependant, avec le *Coli* V, ménager l'expérience suivante dont le résultat reproduit à s'y méprendre les taches de bactériophage (fig. 4 et 5).

EXPÉRIENCE XVI. — On ensemence avec le *Coli* ϕ 5 tubes contenant 9 cent. cubes de bouillon; on ensemence également un tube de bouillon avec le *Coli* V. Après quelques heures à 37°, les cultures étant en plein développement, on verse 1 cent. cube de la culture de *Coli* V dans un premier tube de *Coli* ϕ . L'on a ainsi une dilution au 1/10 de *Coli* V dans le *Coli* ϕ . De ce premier mélange, on verse 1 cent. cube dans le second tube de *Coli* ϕ et ainsi de suite, on continue des dilutions successives de dix en dix fois plus grandes de *Coli* V dans le *Coli* ϕ . On étale ensuite sur 3 tubes de gélose une



FIG. 4. — EXP. XVI. — Culture de *Coli* ϕ contenant du *Coli* V très dilué.



FIG. 5. — Culture de *Coli* ϕ contenant du bactériophage très dilué.

goutte respectivement des dilutions 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} . Le lendemain, ces 3 cultures sur gélose de *Coli* ϕ , contenant des quantités de dix en dix fois plus petites de *Coli* V, présentent l'aspect tout à fait remarquable que voici : sur le fond de la culture de *Coli* ϕ apparaissent des taches de clarification circulaires identiques à des taches de bactériophage ; ces taches sont dix fois plus nombreuses dans le premier tube que dans le second et cent fois plus nombreuses que dans le troisième. Avec une loupe on voit, au centre de chacune de ces taches, une minuscule colonie de *Coli* V.

Le résultat de cette expérience rappelle à ce point les effets du bactériophage que le rapprochement entre eux s'impose. On ne peut s'empêcher de songer combien les taches claires, si caractéristiques de l'action du bactériophage dilué, peuvent être un argument puissant, aux yeux de d'Hérelle, en faveur de sa conception. D'après cet auteur, en effet, les taches claires sont de véritables colonies du virus bactériophage — d'autant moins nombreuses que celui-ci est plus dilué — et, comme il s'agit d'un virus invisible, ces colonies sont aussi invisibles mais se trahissent en négatif par leur effet bactériolytique sur la culture du microbe sensible. Or, dans l'expérience précédente les taches claires, si semblables à celles du bactériophage, sont effectivement des colonies, et des colonies visibles d'un microbe visible, le *Coli* V. Si le *Coli* V était suffisamment petit pour traverser les filtres et échapper à nos yeux, la ressemblance serait plus frappante encore, les taches qu'il forme seraient identiques aux taches de bactériophage. Il n'est donc pas impossible que ces dernières soient réellement des colonies de virus comme le pense d'Hérelle. La conception de cet auteur pourrait donc être exacte et devrait être simplement étendue du domaine de l'invisible à celui du visible. Avec B. Rhodes [2], j'ai montré que des staphylocoques vivants pouvaient détruire les staphylocoques morts. Ce phénomène a été retrouvé ultérieurement par Twort [3], puis par Duran Reynals [4]. Avec Sara Dath [5], j'ai redécouvert après Lieske [6] la lyse de nombreuses bactéries vivantes par une moisissure, le streptothrix, phénomène que j'ai désigné sous le nom de « mycolyse » et qui se rapproche beaucoup de celui de l'antagonisme provoqué étudié par Schiller [7]. Déjà Pinoy [8] et Vuillemin avaient étudié jadis des myxomycètes ne pouvant se développer que sur des milieux contenant des bacilles fluorescents ou pyocyaniques qu'ils emportent d'ailleurs toujours avec eux et dont il est très difficile de les séparer. C'est Vuillemin qui a créé à ce moment le terme de « bactériophage » pour désigner ces myxomycètes. Entre les bactériophages de Vuillemin et Pinoy et le bactériophage de d'Hérelle, existeraient toute une série d'intermédiaires et les microbes, tels le *Coli*, pourraient succomber à de véritables maladies infectieuses dues non seulement à des virus filtrables, intracellulaires, les bactériophages de d'Hérelle,

mais encore à des bactéries visibles extracellulaires, produisant des toxines antimicrobiennes, tel le *Coli V*, absolument comme un lapin peut mourir de l'herpès ou du tétanos.

Cette conception d'Herellienne, en quelque sorte étendue, est tentante et l'esprit y chercherait volontiers une certitude où se reposer; mais il ne tarderait pas à s'apercevoir qu'il enferme ainsi le problème du bactériophage dans l'inconnu où se trouvent plongés les virus filtrables, alors qu'il est peut-être possible d'en sortir ceux-ci grâce au bactériophage, ainsi que le suggérait aussi Wollman [9] dans un récent travail. Une autre considération, d'ailleurs, nous incite à la réflexion. N'est-il pas singulier que les deux microbes dont nous avons étudié l'antagonisme sont précisément deux microbes très voisins? La bactérie toxique V, la bactérie lysogène en somme, pour employer une expression consacrée, et la bactérie sensible ϕ , la bactérie lysable si l'on veut, sont toutes les deux du *B. coli*. N'est-ce là qu'une coïncidence? Qu'arriverait-il, si la petite distance qui sépare ces deux cultures voisines disparaissait et si alors les deux propriétés, la propriété lysogène et la propriété lysable, se confondaient dans une même culture? Que donnerait alors la dernière expérience? Les quelques individus lysogènes, disséminés parmi les individus lysables, en se multipliant, inhiberaient tout d'abord la croissance de ces derniers tout autour d'eux, ils produiraient des taches claires et formeraient au centre de ces taches une colonie comme le *Coli V*, mais ces individus lysogènes étant eux-mêmes lysables, la colonie disparaîtrait à nos yeux et ne laisserait plus qu'une tache vierge, une tache de bactériophage. Une semblable éventualité est d'ailleurs réalisée par certaine culture de charbon. Et voilà comment, encore une fois, la même expérience si favorable à la théorie de d'Herelle nous ramène à la conception de Bordet et Ciuca.

Cette explication, il est vrai, implique la condition inéluctable que voici. Si, dans la bactériophagie, les deux propriétés, lysogène et lysable, sont confondues dans le même microbe, il faut cependant qu'elles y soient séparées dans le temps et que le microbe sensible puisse d'abord être lysogène avant d'être lysé. Or, cette condition est précisément conforme à la réalité. Il résulte, en effet, des observations de différents auteurs et plus

particulièrement de celles de Doerr et Grüniger [10, qu'une culture contenant du bactériophage commence toujours par se multiplier et par régénérer le bactériophage avant de se lyser. J'ai même observé des cultures de staphylocoque qui régénéraient totalement le bactériophage huit jours avant la lyse; elles étaient donc bien lysogènes avant de se lyser.

Ces considérations nous amènent donc logiquement à envisager l'hypothèse du bactériophage, sécrétion microbienne. Nous allons pour cela reprendre l'étude du principe V, non plus dans ses relations avec la bactérie sensible, le *Coli* ϕ , mais avec la bactérie productive, le *Coli* V.

Deuxième partie.

PRODUCTION DU PRINCIPE V.

A quel moment de son développement le *Coli* V produit-il des quantités appréciables de principe V?

EXPÉRIENCE XVIII. — On ensemence huit tubes de bouillon avec du *Coli* V, puis on le place à 37°. On filtre le premier tube trois heures plus tard, au moment où la culture forme déjà un trouble bien visible, puis on continue à filtrer ainsi un tube toutes les deux heures, c'est-à-dire à la cinquième, septième, neuvième, onzième et treizième heure. On filtre encore deux tubes l'un à la vingt-quatrième et l'autre à la trente-sixième heure. On verse alors 1 goutte de chacune de ces huit cultures filtrées respectivement sur huit tubes de gélose récemment ensemencés de *Coli* ϕ . Seuls les deux derniers filtrats laissent sur leur passage une trainée de clarification.

Une culture de *Coli* V en bouillon forme du principe V en quantité suffisante pour marquer son action par une trainée de clarification sur une culture de *Coli* ϕ en gélose, lorsqu'elle a atteint un complet développement, c'est-à-dire lorsque la culture est très opaque et présente à la fois un dépôt dans le fond du tube, un voile à la surface et une collerette au niveau du ménisque. En vérité, l'élaboration du principe V commence sensiblement plus tôt; mais il est compréhensible que, pour manifester son activité par une trainée de clarification bien nette, il doit dépasser un certain seuil de concentration; il doit affecter la quasi-totalité des germes de *Coli* ϕ ensemencés sur le tube de gélose; si, étant moins concentré, il n'en frappe

qu'une partie, les germes non atteints sont suffisamment nombreux pour former une culture confluyente.

Il va de soi que les résultats des expériences précédentes obtenues avec un milieu de culture très nutritif, permettant un développement abondant et rapide de *Coli* V, seront différents selon les milieux de culture employés. Moins le milieu est favorable à la culture et moins la production du principe V sera rapide. Des différences très accusées se manifestent déjà entre deux échantillons différents de bouillon ordinaire. En voici un exemple :

EXPÉRIENCE XX. — On ensemence avec du *Coli* V deux tubes de bouillon différent, l'un bien foncé et l'autre pâle. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture dans le premier tube est très opaque, elle présente un dépôt dans le fond, un voile à la surface et une collerette au ménisque. La seconde est simplement opaque sans dépôt ni voile. On filtre les deux cultures, puis on dépose 1 goutte de chacune d'elles, respectivement, sur la surface de deux tubes de gélose ensemencés de *Coli* ϕ . Seule la première culture filtrée laisse la trainée de clarification caractéristique.

INFLUENCE DE LA RÉACTION DU MILIEU.

Un bouillon pâle, peu favorable au développement du *Coli* V, est corrélativement peu favorable à la production du principe V. Un autre facteur très important pour la production du principe V est l'évolution du pH dans la culture. Il est aisé de montrer que le principe V disparaît rapidement dans un milieu dont le pH est inférieur à 5,0. Il en résulte que le bouillon glucosé, bien que très favorable au développement du *Coli* V, ne convient pas à la production du principe V, pas plus d'ailleurs qu'à la production de certaines toxines ou à la régénération du bactériophage comme d'Hérelle l'avait signalé.

En répétant l'expérience XVIII dans du bouillon glucosé, on constate, en effet, que si l'apparition du principe V y est plus précoce que dans le bouillon ordinaire, en revanche il ne s'y maintient pas, par suite de l'abaissement du pH . A plus forte raison, l'eau peptonée glucosée est-elle un milieu défavorable. La culture y étant peu rapide, elle n'y a pas encore atteint un développement suffisant pour produire assez de principe V que déjà le pH , par manque de tampon dans le milieu, est descendu en dessous de la limite compatible avec l'existence de ce principe.

Comme nous l'avons vu (exp. VII) le principe V est extrêmement stable et se conserve de façon indéfinie, tout au moins lorsqu'il a été séparé par filtration des microbes producteurs. Qu'advient-il si on conserve le principe au contact des microbes, c'est-à-dire si on laisse vieillir la culture de *Coli V* sans la filtrer?

DESTRUCTION DU PRINCIPE V AU CONTACT DU « B. COLI V ».

EXPÉRIENCE XXII. — On place, à 37°, 50 cent. cubes de bouillon ordinaireensemencé avec du *Coli V*. On prélève des échantillons de la culture après un jour, deux jours, huit jours, quinze jours, trois semaines. On filtre chaque fois ces échantillons et on essaie leur activité en en plaçant 1 goutte sur un tube de gélose ensemencé de *Coli φ*. L'activité a disparu entre le huitième et le quinzième jour.

Conservé au contact de la bactérie productrice, le principe V perd son action inhibitrice en moins de quinze jours. C'est exactement ce qui se passe pour une toxine, la toxine diphtérique, par exemple, qui reste active pendant très longtemps lorsqu'elle est filtrée, mais perd rapidement sa toxicité lorsqu'elle est abandonnée au contact du bacille producteur.

VARIATIONS DU POUVOIR TOXIGÈNE DU « B. COLI V ».

Lorsque dans une vieille culture de *Coli V* en bouillon le principe V a complètement disparu, les bactéries ont-elles conservé leur pouvoir toxigène?

EXPÉRIENCE XXIII. — Une culture de *Coli V* en bouillon a été conservée dans un ballon pendant six mois. On en filtre un échantillon et vérifie que le filtrat n'a plus la moindre action inhibitrice sur le *Coli φ*. On soumet cette culture à l'isolement. Le lendemain on repique en bouillon, d'une part la culture totale non isolée, d'autre part quatre colonies isolées. Après vingt-quatre heures d'étuve, on filtre les cinq cultures, préalablement repiquées, et essaie leur activité sur des tubes de gélose récemment ensemencés avec le *Coli φ*. La culture totale ainsi qu'une seule des cultures isolées sont actives; les trois autres cultures isolées sont inactives.

Dans une vieille culture de *Coli V* en bouillon, il existe des différences individuelles parmi les bactéries qui la constituent. Certaines ont conservé leurs propriétés toxigènes, un plus

grand nombre les ont perdues. En vérité, cette perte d'activité n'est que passagère. A preuve, l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE XXIV. — Reprenons une des trois cultures isolées inactives et soumettons-la à des repiquages successifs quotidiens. On essaie tous les jours l'activité de chaque repiquage, chauffé ou filtré, en en laissant tomber une goutte sur un tube de gélose récemment ensemencé de *Coli* φ . Au quatrième repiquage, la culture a complètement récupéré son activité. Il est aisé de vérifier que les autres cultures isolées récupèrent également leur activité, les unes un peu plus rapidement que les autres. $\surd$

La production du principe V est d'autant plus intense et plus rapide que le *Coli* V se multiplie plus activement. Maximale dans les cultures jeunes régulièrement entretenues, la production se ralentit, puis s'éteint à mesure que la culture vieillit. Le principe V s'altère, puis disparaît, tandis que les bactéries elles-mêmes entrent en léthargie et tendent à perdre leur pouvoir toxigène. Toutefois, cette perte d'activité est passagère ; le mécanisme de la sécrétion, plus ou moins arrêté par un long séjour dans des conditions de vie latente, se remet en fonction, dès que, par une série de repiquages successifs, on restitue au microbe sa pleine vitalité. C'est, d'ailleurs, ce qui découle avec plus de netteté encore des observations suivantes :

Lorsqu'au lieu d'une culture de *Coli* V en bouillon on laisse vieillir une culture de *Coli* V en eau peptonée glucosée, le pH s'abaisse rapidement et ne tarde pas à descendre, dès la douzième heure, en dessous de pH 4.0. Dans ces conditions, non seulement le principe V ne résiste pas, mais le *Coli* V lui-même succombe progressivement, mais rapidement, et après cinq jours la culture est stérile. Or, une fois j'ai obtenu le résultat différent que voici : Contrairement à l'habitude, une culture en eau peptonée glucosée contient encore, après plus de huit jours, un grand nombre de bactéries vivantes, puisque 1 goutte ensemencée sur gélose donne une culture confluyente. Or, ces individus vivants, adaptés au milieu devenu acide, ne se développent plus aussi bien en bouillon ordinaire que le *Coli* V normal. Après vingt-quatre heures à 37°, ils donnent une culture translucide, sans dépôt au fond du tube et sans voile à la surface. Comme il faut s'y attendre, cette culture insuffisante ne contient pas assez de principe V pour faire une traînée de clarification sur un tube de gélose ensemencé de *Coli* φ .

EXPÉRIENCE XXV. — A la surface de deux tubes de gélose récemmentensemencés de *Coli*, on verse une goutte respectivement d'une culture en bouillon de *Coli* V normal et d'une culture en bouillon de *Coli* V ayant survécu dans le milieu peptoné glucosé, toutes deux âgées de vingt-quatre heures et filtrées. Seul le premier filtrat laisse sur son passage la trainée de clarification caractéristique.

Cette perte d'activité du *Coli* V adapté au milieu devenu acide paraît cette fois définitive ; mais en vérité, pour plus durable, elle n'en est pas moins passagère.

EXPÉRIENCE XXVI. — On repique chaque culture en série ; d'une part, le *Coli* V normal et d'autre part le *Coli* V inactif. Chaque jour aussi, sitôt le repiquage assuré, on filtre les deux cultures et on essaie leur activité sur des tubes de gélose récemmentensemencés de *Coli* ϕ . Après un certain nombre de repiquages, la culture du *Coli* V inactif semble devenir graduellement plus épaisse et tend à regagner les caractères du *Coli* V normal. Au neuvième repiquage, le retour à l'aspect normal est presque complet et, au dixième, les deux cultures sont indistinguables. Or, précisément à ce dixième repiquage, le retour à l'aspect normal du *Coli* V inactif coïncide avec le retour de l'activité, celle-ci se manifestant par une trainée de clarification au moins aussi nette que celle laissée par le *Coli* V normal à la surface d'une culture de *Coli* ϕ sur gélose.

La production du principe V est, nous l'avons vu plus haut, d'autant plus intense que le milieu de culture est plus favorable à la croissance, mais à milieu de culture égal elle l'est aussi d'autant plus que le *Coli* V est plus vivace.

L'étroite relation entre la production du principe V et la multiplication cellulaire, si évidente dans les expériences précédentes et si naturelle puisqu'il s'agit d'un produit du métabolisme du *Coli* V, évoque singulièrement nos connaissances sur la régénération du bactériophage et va se retrouver de façon absolument identique dans l'étude de la production du bactériophage anti-Shiga par un *Coli* lysogène de Lisbonne et Carrère.

Troisième partie.

PARALLÉLISME ENTRE LE POUVOIR LYSOGÈNE

DU « COLI » LISBONNE

ET DU POUVOIR TOXIGÈNE DU « COLI V » POUR LE « COLI ϕ ».

Je ne puis ici rappeler en détail ni ce que l'on entend par pouvoir lysogène, ni la distinction faite récemment par Bordet [44] entre un pouvoir lysogène passif ou provoqué et un

pouvoir lysogène actif ou naturel. Le premier est celui qu'une souche microbienne normale acquiert par contact avec un bactériophage d'une origine qui lui est étrangère et dont on le débarrasse avec la plus grande facilité, soit mécaniquement par l'isolement (Kuttner, Gratia), soit chimiquement par l'immersion dans le sérum antilytique correspondant (Bordet et Ciuca). Le second est l'apanage de ces curieuses souches de *B. coli* isolées par Lisbonne et Carrère [12] et qui, sans présenter aucun caractère particulier, engendrent dans leur culture du bactériophage anti-Shiga. Ces souches, longuement étudiées par Bordet dans un mémoire récent, ont beau être isolées un grand nombre de fois successivement (Bordet) même après avoir été traitées au préalable par du sérum antilytique (Mac Kinley), elles donnent toujours des colonies parfaitement normales et qui, toutes indistinctement, mais à des degrés variables, donnent du bactériophage anti-Shiga. Il semble bien que chaque individu de *Coli* Lisbonne possède ce pouvoir lysogène comme un attribut normal de son métabolisme.

Avec l'aide obligeante de M^{lle} Doyle, j'ai également essayé, sans y parvenir, de faire disparaître les propriétés lysogènes du *Coli* Lisbonne par différents procédés, notamment en le laissant séjourner dans des cultures en eau peptonée (1 p. 100) glucosée (1 p. 100). Ce milieu, utilisé par Da Costa Cruz 13, dans ses expériences sur le rôle des électrolytes, ne convient pas à la régénération du bactériophage à un double titre, tout d'abord parce que, d'après ce dernier auteur, l'eau peptonée est pauvre en sels dissociés, ensuite parce que, comme l'a montré d'Hérelle, un milieu sucré acquiert une acidité incompatible avec l'action du bactériophage.

EXPÉRIENCE XXVII. — On ensemence, avec du *Coli* Lisbonne, un ballon contenant de l'eau peptonée glucosée (eau distillée : 100 grammes, peptone de Witte : 1 gramme, glucose : 1 gramme) et le place à 37°. On prélève des échantillons de cette culture à différents intervalles au cours de son développement. Après trois, six, dix, vingt-quatre et trente-six heures, on chauffe chaque échantillon à 58°, on en mesure le pH ainsi que sa teneur en bactériophage anti-Shiga.

pH initial : 7,6	Titrage du bactériophage anti-Shiga.
pH après 3 heures : 7,5 . .	++
pH après 6 heures : 6,0 . .	+++
pH après 10 heures : 4,8 . .	++++
pH après 24 heures : 4,0 . .	-----

Pendant les dix premières heures, on voit que la production du bactériophage anti-Shiga augmente parallèlement au développement de la culture, tandis que le pH s'abaisse progressivement jusqu'à atteindre une acidité incompatible avec l'existence du principe. Après vingt-quatre heures, le pH étant descendu en dessous de 4,0, on ne trouve plus trace de bactériophage dans la culture chauffée à 58°, même après plusieurs passages sur le bacille Shiga.

EXPÉRIENCE XXVIII. — Fort du résultat précédent, on ensemence du *Coli* Lisbonne dans de l'eau peptonée glucosée. Après quarante-huit heures de culture à 37°, alors que toute trace de bactériophage a disparu dans le milieu, ainsi qu'on le vérifie encore, l'on soumet la culture à l'isolement. Le lendemain, on repique en bouillon 10 colonies isolées, qui toutes, après vingt-quatre heures de culture, donnent du bactériophage anti-Shiga.

Bien que toute trace de bactériophage ait disparu du milieu, après quarante-huit heures de séjour dans de l'eau peptonée glucosée devenue acide, chaque individu du *Coli* Lisbonne a conservé intact son pouvoir lysogène. Chaque individu du *Coli* Lisbonne possède donc en lui le déterminisme de la lyse du bacille Shiga, absolument comme chaque individu de *Coli* V contient en lui le déterminisme du principe anti φ . Or, ce déterminisme ne joue plus, dès que l'on tue le *Coli* Lisbonne à la température de 57° qui, pourtant, respecte le bactériophage. On peut alors mettre des millions de *Coli* Lisbonne tués en contact avec du Shiga sans provoquer la lyse de ce dernier.

EXPÉRIENCE XXIX. — On ensemence le *Coli* Lisbonne dans un tube d'eau peptonée glucosée. Après quarante-huit heures à 37°, lorsque la culture devenue acide est privée de tout bactériophage, on la centrifuge, on décante le liquide surnageant, tandis que le culot d'abord lavé à l'eau physiologique est remis en suspension dans un tube de bouillon ordinaire. On prélève aussitôt 1 cent. cube de cette émulsion, pour commencer une série de 10 dilutions successives de dix en dix fois plus grandes, dans des tubes de bouillon, tandis qu'on chauffe à 57° le restant de l'émulsion mère. On obtient ainsi, d'une part, un tube de bouillon contenant des millions d'individus de *Coli* Lisbonne tués (émulsion mère) et d'autre part une série de tubes contenant des quantités décroissantes de *Coli* Lisbonne vivants. Le lendemain, celui-ci s'est développé jusqu'au huitième tube de la série de dilutions. On chauffe le huitième tube à 57°, puis on y recherche, avec un résultat positif, la présence de bactériophage anti-Shiga, tandis que l'on n'en trouve pas du tout dans le tube contenant l'émulsion mère tuée.

Une trace infime, voire même un seul individu de *Coli* Lisbonne vivant, peut, en se multipliant, produire la lyse du

bacille de Shiga, tandis que des millions de *Coli* Lisbonne tués à une température respectant pourtant le bactériophage ne le peuvent pas.

Avec M^{lle} Doyle, nous avons étudié la production du bactériophage anti-Shiga en répétant avec le *Coli* Lisbonne les expériences que j'avais faites avec le *Coli* V et rapportées ci-dessus dans la deuxième partie de ce travail. Il serait fastidieux de rappeler ici ces expériences en détail. Il me suffira de dire que la façon dont le *Coli* Lisbonne engendre le bactériophage anti-Shiga et la façon dont le *Coli* V produit le principe anti- ϕ sont absolument identiques. Même conservation du bactériophage dans les cultures de *Coli* Lisbonne filtrées ou chauffées, même destruction dans les cultures vivantes. Même parallélisme entre la production du bactériophage et le développement de la culture, production d'autant plus grande que le milieu est plus favorable à la croissance et, à milieu égal, que le *Coli* Lisbonne est plus vivace. Une autre analogie frappante entre le pouvoir lysogène du *Coli* Lisbonne, d'une part, et le pouvoir anti- ϕ du *Coli* V, d'autre part, se retrouve encore dans les variations d'activité que manifestent ces souches, variations qui peuvent même aller, dans certains cas, jusqu'à la disparition plus ou moins temporaire, puis à la réapparition de l'activité. Lorsqu'on soumet à l'isolement une culture de *Coli* Lisbonne, on peut constater, — si cette culture est un peu âgée, — que les différentes colonies n'ont pas un égal pouvoir lysogène et même, si certaines sont d'emblée actives, il en est d'autres qui ne le deviennent qu'après quelques repiquages. Or, c'est exactement ce que nous avons vu dans la deuxième partie de ce mémoire pour la sécrétion du principe anti- ϕ par le *Coli* V. Là aussi, nous avons vu qu'au sein d'une même culture de *Coli* V, si celle-ci est un peu âgée, certains individus sécrètent d'emblée du principe anti- ϕ , tandis que d'autres ne le sécrètent qu'après des repiquages successifs plus ou moins nombreux. Lisbonne et Carrère [14] signalent d'ailleurs que deux cultures lysogènes sœurs, entretenues chacune dans un laboratoire différent, avaient, l'une, conservé son activité lytique et l'autre pas, et qu'inversement certaines souches reconnues comme non lysogènes par différents laboratoires étaient, un moment donné, devenues lysogènes. C'est, au fond, le même genre de varia-

tions que Twort (15) avait déjà décrites dans son premier mémoire. Il constatait, en effet, qu'à partir d'une souche de microcoques de la vaccine présentant la transformation vitreuse il pouvait isoler des colonies d'aspect normal donnant, dans la suite, une culture qui restait normale à travers de nombreux repiquages, puis qui, brusquement, redevenait malade. Ce fait parut à Twort difficilement conciliable avec l'hypothèse d'un virus qu'il avait d'abord imaginée.

Sans doute d'Hérelle considère-t-il les cultures lysogènes comme des cultures contaminées par du virus bactériophage auquel elles se seraient adaptées et avec lequel elles vivraient en symbiose, c'est-à-dire en somme des cultures « porteuses de germes ». Peut-être a-t-il raison, encore que Bordet ait longuement réfuté cette façon de voir, mais il est extrêmement curieux de constater que tout ce que nous venons de dire des variations du pouvoir lysogène du *Coli* Lisbonne nous l'avons trouvé de façon absolument parallèle pour la sécrétion du principe anti- φ par le *Coli* V, et il ne nous étonnerait pas de voir un jour des cultures de *Coli* V perdre toute capacité de produire leur principe actif pour le récupérer peut-être ensuite spontanément (1).

Tout conspire donc à nous donner au moins l'illusion que le bactériophage anti-Shiga, dont il s'agit, est un produit du métabolisme du *Coli* Lisbonne comme le principe anti- φ qui lui, sûrement, n'est pas un virus, est un produit du métabolisme du *Coli* V. La bactériophagie serait donc, conformément à l'hypothèse de Lisbonne et Carrère, un phénomène d'antagonisme microbien. Mais alors, si l'on comprend bien que le bactériophage pour le bacille de Shiga puisse être un produit du *Coli* Lisbonne comme la substance toxique pour le *Coli* φ est un produit du *Coli* V, comment expliquer que le premier puisse alors ensuite se régénérer aux dépens du Shiga, tandis que la seconde ne le fait pas aux dépens du *Coli* φ ? Il faut alors imaginer, comme nous l'avons fait à la fin de la première partie, que l'antagonisme au lieu de se manifester seulement

(1) Cette prévision de 1926 se trouve précisément confirmée en 1931 comme nous l'avons signalé à la fin de notre avant-propos. Il y a quelques mois, la souche V ne manifestait plus son pouvoir anti- φ , même après 40 repiquages successifs. Tout récemment elle a récupéré ce pouvoir spontanément.

entre deux souches microbiennes voisines, l'une lysogène et l'autre lysable, puisse aussi exister au sein d'une même culture et qu'un même microbe réunisse, à des âges différents de son évolution, les deux propriétés, lysogène d'abord et lysable ensuite. La régénération du bactériophage ne serait pas le fait de la vie de ce dernier, mais de la vie de la bactérie elle-même, ainsi que le défendent Bordet et Ciuca.

D'ailleurs, la reproduction dont le bactériophage est doué, et qui incontestablement éveilla d'abord l'idée de la vie, n'est pas l'apanage exclusif des êtres vivants. Je me suis plu jadis [16] à rappeler l'exemple de la thrombine et celui du feu. Depuis, Delezenne et M^{lle} Ledebt [17] ont découvert l'activation en série du suc pancréatique. L'on a encore ajouté d'autres exemples : celui de la maladie de l'étain notamment. D'Hérelle le reconnaît d'ailleurs et l'admet même pour le phénomène de Twort. Or, est-il nécessaire de le répéter, le phénomène de Twort et le phénomène de d'Hérelle ne font qu'un.

Mais, il reste un fait fondamental qui, dans mon esprit, suggère d'une façon obsédante l'idée d'un virus. On conçoit très bien, en effet, qu'un antagonisme existe entre le *Coli* Lisbonne et le Shiga. on conçoit même qu'un antagonisme identique existe au sein de la culture de Shiga elle-même, mais comment expliquer qu'une culture de Shiga, par son contact avec le *Coli* Lisbonne, acquiert, de toute pièce, un pouvoir lysogène qu'elle ne possédait en aucune façon auparavant? Comment le bactériophage, que dorénavant ce Shiga, grâce à ce pouvoir lysogène acquis, va régénérer à l'infini, conserve-t-il son caractère d'origine et reste-t-il toujours du bactériophage Lisbonne? Le même Shiga touché par un autre bactériophage d'une autre provenance peut acquérir un pouvoir lysogène différent du premier lui faisant régénérer cet autre bactériophage et ainsi de même, avec autant de bactériophages différents, tous conservant les caractères originels.

Cette notion simultanément mise en lumière il y a longtemps déjà par Bruynoghe et Appelmans [18] d'une part, avec le bacille typhique, et par moi-même [19], d'autre part, avec le staphylocoque peut à la rigueur s'expliquer par la conception de Bordet et Ciuca, mais elle plaide plutôt pour l'autonomie des bactériophages. C'est cette autonomie qui fait singulière-

ment songer à un être vivant. En vérité, un même microbe se comporte à l'égard de bactériophages de diverses origines, absolument comme une même cellule cutanée de génisse, par exemple, reproduit indifféremment, en conservant leur autonomie, le virus de la vaccine ou celui de la fièvre aphteuse. Et voici donc le bactériophage placé entre deux comparaisons défendables, celle d'une sécrétion microbienne d'une part, et celle d'un virus filtrable d'autre part. Il n'existe, à mon sens, aucune démonstration réellement cruciale qui permette de les partager; nous sommes réduits à un conflit de vraisemblances. Oserait-on dire que ces deux comparaisons ne sont pas contradictoires et peuvent être conciliées? Oserait-on supposer que le bactériophage puisse être à la fois une forme vivante autonome et une sécrétion cellulaire? Depuis longtemps déjà le sentiment existe qu'entre le monde vivant et le monde inanimé il pourrait peut-être ne pas y avoir de solution brusque de continuité; mais, au contraire, une transition ménagée de formes « précellulaires » de vie, comme dit Twort [20]. Déjà Beyerinck l'imaginait jadis pour la mosaïque du tabac avec son « fluidum contagiosum ». Duclaux ne disait-il pas aussi que les diastases pourraient être vivantes? Cette notion n'est donc pas neuve, et on ne peut s'empêcher de l'évoquer en lisant les travaux de Bail [21, Doerr 22], de Wollman [9], d'autres encore. Il se pourrait fort bien qu'il existât des formes de vie qui, tout en jouissant d'une certaine autonomie, soient tributaires des cellules qui les engendrent. Les virus filtrables, pas plus que le principe sarcomateux de Peyton Rous ou que le bactériophage, tout en étant autonomes, n'ont jamais pu être cultivés séparément des cellules aux dépens desquelles ils se multiplient. A ces formes intermédiaires de la vie qui seraient dans l'ordre décroissant, les virus filtrables, le principe de Peyton Rous, le bactériophage, il faudrait ajouter l'agent des singuliers phénomènes d'entraînement microbien récemment étudiés par E. Burnet [23]. Il faudrait aussi envisager la possibilité de régénération en série de certains ferments qui ont toujours été considérés comme des sécrétions cellulaires pures et simples. Il est vraisemblable qu'on trouverait ainsi un grand nombre de sécrétions transmissibles, si on les recherchait systématiquement, lorsqu'on songe que le phénomène du bactériophage, se

manifestant pourtant à nos sens de façon si visible, a pu nous échapper si longtemps. Ne pourrait-on pas voir, par exemple, la toxine sécrétée par un bacille diphtérique rendre toxigène en série une souche diphtérique atoxique? Ne pourrait-on pas alors aussi imaginer, comme on l'a fait, que l'agent de la scarlatine soit une « sécrétion » de certains streptocoques ou que celui du typhus exanthématique soit « sécrété » par certains *Proteus* X 19?

Twort a fait cette judicieuse remarque : lorsqu'il s'agit des microbes visibles, on distingue, à côté du petit nombre de microbes pathogènes, le monde énorme des bactéries non pathogènes se manifestant simplement par leurs actions fermentatives ; lorsqu'on descend, par contre, dans le domaine de l'invisible, on ne s'intéresse plus qu'aux seuls virus sources de maladies et l'on néglige le monde énorme qui doit correspondre dans l'invisible aux microbes non pathogènes. Il peut, en effet, y avoir là un vaste domaine inexploré, correspondant à celui des sécrétions transmissibles, dont l'étude du bactériophage nous amène à envisager l'existence. On objectera aussitôt que cela n'est peut-être pas très conforme à la théorie pastoriennne sur l'inexistence de génération spontanée. En vérité, la théorie pastoriennne, indiscutable pour les bactéries, n'est précisément peut-être pas valable pour les formes « précellulaires » de la vie et je rappelle ici à nouveau l'exemple du feu. Celui-ci, en quelque sorte image de la vie, a dû aux yeux de nos ancêtres pendant longtemps être considéré comme ne pouvant naître que d'une flamme déjà existante, et le culte de Vesta n'est-il peut-être que le témoignage rituel de cette croyance ; aujourd'hui chacun sait que non seulement le feu se transmet d'une flamme à l'autre, mais encore qu'il peut naître de la friction d'une allumette ou encore du travail de la fermentation.

Si, contrairement à ce que nous venons de supposer, il existe entre le monde vivant et le monde inorganisé une barrière infranchissable, alors toute conciliation entre l'hypothèse du bactériophage être vivant autonome et le bactériophage sécrétion microbienne devient absurde. C'est alors qu'une des deux comparaisons est une illusion. Il faudra opter pour l'une ou pour l'autre. L'avenir nous apprendra laquelle des trois éventualités envisagées ci-dessus s'imposera à nous par sa fécondité.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] GRATIA. *C. R. Soc. Biol.*, **43**, 1925, p. 1040.
- [2] GRATIA et RHODES. *C. R. Soc. Biol.*, **40**, 1924, p. 640.
- [3] TWORT. *The Lancet*, vol. II, 1925, p. 642.
- [4] DURAN REYNALS. *C. R. Soc. Biol.*, **44**, 1926, p. 242 et 1330.
- [5] GRATIA et DATH. *C. R. Soc. Biol.*, **41**, 1924, p. 1442; **42**, 1925, p. 461 et 1125; **43**, 1926, p. 451; **44**, p. 1267.
- [6] LIESKE, Morphologie und Biologie der Strahlenpilze, 1923. Leipzig. Gebrüder Borntraeger.
- [7] SCHILLER. *Centr. f. Bakt.*, **91**, 1923, p. 60.
- [8] PINOY. *C. R. Acad. Sc.*, **137**, 1903, p. 580. VUILLEMIN. *Ibidem*, p. 387.
- [9] WOLLMAN. *Ces Annales*, **39**, 1925, p. 789.
- [10] DOERR et GRUNINGER. *Zeitsch. f. Hyg. u. Inf. Krank.*, **97**, 1922, p. 209.
- [11] BORDET. *Ces Annales*, 1925.
- [12] LISBONNE et CARRÈRE. *C. R. Soc. Biol.*, **85**, 1922, p. 569; **88**, 1923, p. 724.
- [13] DA COSTA CRUZ. *C. R. Soc. Biol.*, **89**, 1923, p. 759.
- [14] LISBONNE et CARRÈRE. *C. R. Soc. Biol.*, **90**, 1924, p. 265.
- [15] TWORT. *The Lancet*, 4 décembre 1915.
- [16] GRATIA. *Brit. med. Journ.*, 1922, p. 14.
- [17] DELEZENNE et LEDEBT. *C. R. Acad. Sc.*, **175**, 1922, p. 494.
- [18] BRUYNOGHE et APPELMANS. *C. R. Soc. Biol.*, **87**, p. 96.
- [19] GRATIA et DE NAMUR. *C. R. Soc. Biol.*, **87**, p. 364.
- [20] TWORT. *Veter. Journ.*, août-septembre 1922.
- [21] BAIL. *Deutsch. med. Wochenschr.*, **51**, 1925, p. 13.
- [22] DOERR. *Bull. techn. Sc. méd.*, Genève, vol. I, 1925, p. 23.
- [23] EL. BURNET. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1925, p. 1422; *Arch. Inst. Past. Tunis*, **14**, 1925, p. 384.

ÉTUDE SUR L'IMMUNITÉ LOCALE DANS LA DIPHTÉRIE

par A. BESREDKA

DEUXIÈME MÉMOIRE] (1)

I

Au cours des expériences sur l'immunité antidiphtérique, un phénomène inattendu a particulièrement fixé notre attention. Alors que nous multiplions les essais de vaccination de la peau au moyen de la toxine, dans l'espoir de réaliser l'immunité antidiphtérique locale, à la manière de l'immunité anticharbonneuse ou antistaphylococcique, nous ne fûmes pas peu étonné de nous apercevoir que l'on pouvait y parvenir sans employer la toxine : on n'avait qu'à raser simplement la peau ou, mieux encore, à frictionner la peau rasée au moyen d'une crème à la lanoline. Cette petite opération suffisait pour faire apparaître, quelque temps après, une insensibilité locale de la peau à l'égard de la toxine diphtérique. En étudiant cette immunité de près, nous avons constaté qu'elle est rigoureusement limitée à la peau rasée et frictionnée : pour peu que l'on porte la toxine à quelques millimètres au delà de cette région, on ne manque point de provoquer une réaction cutanée des plus caractéristiques. L'immunité consécutive à la friction présente cet autre caractère important qu'elle ne s'installe pas d'emblée : il faut au moins un délai de vingt-quatre heures pour qu'elle soit manifeste ; elle devient plus solide au bout de trois à quatre jours et, fait intéressant, elle dure pendant une période de douze à quinze jours, en moyenne.

Cette immunité que rien ne laissait prévoir est facile à mettre en évidence. Un lapin neuf est rasé au niveau du flanc droit, par exemple ; quelques jours après, on le rase au

(1) Voir ces *Anna'es*, 46, mai 1931, p. 512.

niveau du flanc gauche et, séance tenante, on soumet la peau, des deux côtés, à la friction avec une crème renfermant une certaine quantité de toxine diphtérique. A la suite de cette double friction, au bout de quelques jours on constate ceci : du côté gauche, la peau qui a été fraîchement rasée présente une réaction inflammatoire, suivie de formation d'une croûte, tandis que, du côté droit, la peau, qui a été antérieurement rasée, réagit à peine ou, le plus souvent, ne réagit pas du tout.

Nous avons pu évaluer d'une façon assez précise le degré de cette résistance de la peau vis-à-vis de la toxine : le lapin ayant subi le feu du rasoir supporte, plusieurs jours après, sans manifester de lésions, jusqu'à 30 unités de toxine.

Tels sont les caractères de cette *cuti-immunité locale* que nous qualifiâmes de *non spécifique*, pour la distinguer de celle que confère la toxine et dont il sera question plus loin. Nous avons déjà rapporté antérieurement plusieurs exemples de ce nouveau genre d'immunité. En voici encore un :

Lapin A. — 12 juin : friction préparante de la peau rasée du flanc droit avec de la crème renfermant 1 cent. cube de sérum normal de cheval pour 10 grammes de lanoline-vaseline.

13 juin : friction d'épreuve, pratiquée simultanément sur la peau du flanc droit antérieurement rasée et sur la peau du flanc gauche fraîchement rasée, avec de la crème renfermant 3 cent. cubes de toxine diphtérique pour 10 grammes de lanoline-vaseline. Pansement.

17 juin : on renouvelle le pansement.

18 juin : à gauche, peau rouge œdématisée ; à droite, légère rougeur de la peau.

19 juin : à gauche, peau œdématisée rouge bleuâtre ; à droite, peau à peu près normale.

20 juin : à gauche, peau œdématisée bleue ; à droite, peau normale.

23 juin : à gauche, grosse croûte noire ; à droite, peau normale.

8 juillet : à gauche, la croûte commence à se détacher ; à droite, peau normale.

En résumé : la friction avec de la crème à 30 unités cutanées de toxine ne détermine pratiquement aucune lésion là où la peau avait été préparée quatre jours à l'avance, alors que cette même crème, au niveau de la peau fraîchement rasée, donne lieu à une réaction cutanée intense.

II

Quel est le mécanisme de l'immunité créée par le feu du rasoir? Y a-t-il lieu d'invoquer le traumatisme des terminaisons nerveuses de la peau? Est-ce l'épaississement de la couche épidermique, qui rend la peau moins réceptive? Ne pouvant pas nous prononcer encore à ce sujet, nous avons essayé, en attendant, d'aborder le problème par un autre côté en cherchant à situer cette immunité non spécifique dans le cadre des phénomènes déjà connus.

Cette immunité se laisse-t-elle influencer par l'antitoxine diphtérique? En d'autres termes, se confond-elle avec l'immunité passive ou bien s'ajoute-t-elle à celle du sérum antidiphtérique?

Pour s'en rendre compte, il a fallu voir, d'abord, comment les choses se passent chez l'animal neuf, non rasé, que l'on soumet à l'action combinée du sérum spécifique sous la peau et de la toxine diphtérique sur la peau.

Lapin B. — Injection préventive de 0 c. c. 5 de sérum antidiphtérique sous la peau. Cinq minutes après, friction de la peau du flanc droit avec de la crème titrant 250 unités cutanées de toxine, soit renfermant 25 cent. cubes de toxine pour 10 grammes de lanoline-vaseline. Les jours suivants, réaction cutanée nulle.

(Le témoin, frictionné avec la même crème toxique, sans avoir reçu de sérum, présente une très grosse croûte noire, adhérente et extrêmement dure.)

Lapin C. — Friction de la peau du flanc droit avec de la crème tenant 30 unités cutanées de toxine, soit renfermant 3 cent. cubes de toxine pour 10 grammes de lanoline-vaseline; aussitôt après : injection sous la peau de 0 c. c. 5 de sérum antidiphtérique. Les jours suivants, réaction cutanée faible.

(Le témoin présente une croûte noire; voir pour les détails, ces *Annales*, mai 1931, p. 546; Lapin 25.)

Lapin D. — 12 mai : friction de la peau du flanc droit avec de la crème titrant 50 unités cutanées de toxine; aussitôt après : injection sous la peau de 0 c. c. 5 de sérum antidiphtérique.

14 mai : rougeur étendue de la peau; celle-ci est craquelée par places.

16 mai : croûte marquée.

19 mai : croûtelles isolées.

(Le témoin présente une réaction plus intense que le lapin précédent C.)

Lapin E. — 28 avril : Friction de la peau du flanc droit avec de la crème titrant 30 unités cutanées de toxine; une demi-heure après : injection sous la peau de 2 cent. cubes de sérum antidiphtérique.

30 avril : œdème bleu.

2 mai : croûte noire.

6 mai : forte croûte noire adhérente.

13 mai : croûte noire persistante.

(Pour le témoin, voir plus haut.)

Lapin G. — 28 avril : friction de la peau du flanc droit avec de la crème titrant 30 unités de toxine; *vingt-quatre heures après* : injection sous la peau de 5 cent. cubes de sérum antidiphtérique.

Les jours suivants, on assiste à la formation d'une forte croûte noire, comme chez le lapin précédent.

Il ressort de ces expériences que, chez les lapins neufs auxquels on injecte du sérum antidiphtérique, l'effet de la friction avec de la crème diphtérique varie suivant que le sérum précède ou suit la friction. Dans le cas où le sérum précède la friction (lapin B), celle-ci ne provoque pas de réaction cutanée, alors même que l'on applique ensuite sur la peau de la crème diphtérique concentrée au maximum (250 unités cutanées). Lorsque le sérum antidiphtérique est administré après la toxine, les résultats de la friction varient suivant la dose du sérum et celle de la toxine; les résultats varient surtout suivant l'intervalle qui sépare l'un de l'autre. En règle générale, le sérum se montre d'autant plus actif qu'il suit de plus près la friction toxique (Lapins C et D). Lorsque l'intervalle entre la toxine et le sérum ne dépasse pas une demi-heure, le sérum est capable d'atténuer l'action nécrosante de la toxine (Lapin E); dès que ce délai est passé, le sérum, même injecté à dose élevée, est impuissant d'agir sur la lésion cutanée (Lapins F et G).

III

Maintenant que nous savons dans quelles conditions la toxine appliquée sur la peau est influencée par le sérum chez un animal neuf, il nous sera facile de nous rendre compte de ce qui se passe, dans des conditions analogues, chez un animal préalablement frictionné, c'est-à-dire chez un animal déjà en possession d'une cuti-immunité non spécifique. Le problème se réduit, comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, à savoir si les deux immunités, spécifique et non spécifique, se confondent en une seule ou bien si le sérum antidiphtérique ajoute son action à celle du feu du rasoir et si, dans ce cas, les deux, combinées, ne conféreraient pas à l'animal une cuti-

immunité plus solide que chacun de ces facteurs agissant isolément.

Admettons, pour fixer les idées, qu'un lapin neuf, c'est-à-dire non rasé antérieurement, auquel on administre de la crème à 30 unités de toxine *sur* la peau et, immédiatement après, 0 c. c. 5 de sérum antidiphthérique *sous* la peau, soit à la limite de son immunité cutanée. Il s'agit de savoir si un lapin antérieurement rasé ne saurait supporter, dans les mêmes conditions, une crème renfermant 50 unités de toxine, *par exemple*.

Pour rendre les résultats démonstratifs, l'épreuve ainsi que l'expérience témoin portent sur le même animal : l'épreuve est pratiquée sur le flanc droit et l'expérience de contrôle sur le flanc gauche.

Lapin H. — 20 juin : friction préparante de la peau du flanc droit avec de la crème renfermant 1 cent. cube de sérum normal de cheval pour 10 grammes de lanoline-vaseline.

24 juin : friction d'épreuve de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème à 30 unités de toxine; *une demi-heure après* : injection sous la peau de 0 c. c. 5 de sérum antidiphthérique.

26 juin : légère rougeur de la peau, à droite; œdème bleuâtre de la peau, à gauche.

28 juin : aspect à peu près normal de la peau, à droite; croûte noirâtre, à gauche.

3 juillet : peau normale, à droite; à gauche, la croûte commence à se détacher.

Lapin J. — 5 mai : friction préparante du flanc droit avec de la crème renfermant 1 cent. cube de bouillon ordinaire pour 10 grammes de lanoline-vaseline.

11 mai : friction d'épreuve de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème à 100 unités de toxine; *cinq minutes après* : injection sous la peau de 1 cent. cube de sérum antidiphthérique.

13 mai : rougeur superficielle de la peau, à droite; œdème rouge, à gauche.

15 mai : même aspect qu'hier, à droite; œdème noirâtre, à gauche.

18 mai : peau normale, à droite; croûte noire, à gauche.

Lapin K. — 11 juillet : friction préparante du flanc droit avec de la crème renfermant 1 cent. cube de sérum normal de cheval pour 10 grammes de lanoline-vaseline. •

13 juillet : friction d'épreuve sur les deux flancs, avec de la crème à 250 unités de toxine; *aussitôt après* : injection sous la peau de 2 cent. cubes de sérum antidiphthérique.

17 juillet : peau rouge, à droite; œdème rouge, à gauche.

19 juillet : peu normale, à droite; œdème rouge intense, à gauche.

21 juillet : peau normale, à droite; œdème bleu, à gauche.

24 juillet : peau normale, à droite; croûte noire, à gauche.

Donc, que l'on fasse varier les doses de toxine (30 à 250 unités), ou celles de sérum antidiphtérique (0 c. c. 5 à 2 cent. cubes), ou les intervalles qui séparent la toxine du sérum, le résultat ne varie guère : chez les lapins antérieurement rasés et frictionnés, l'immunité non spécifique se trouve notablement renforcée par l'antitoxine diphtérique (Lapins H, J, K).

La conclusion que nous pouvons en tirer est que l'immunité locale, due au feu du rasoir, est une immunité *sui generis*; c'est pour le moment la seule précision que nous pouvons apporter, relativement à la nature de cette immunité non spécifique.

IV

Dans un mémoire antérieur (1), nous avons montré le parti que l'on pouvait tirer de cette immunité, pour réaliser la vaccination antidiphtérique cutanée : grâce à la tolérance de la peau antérieurement rasée, il était possible d'activer le processus d'immunisation et de réaliser une cuti-immunité locale spécifique.

Maintenant que nous savons que l'immunité non spécifique de la peau se laisse renforcer par l'antitoxine, l'idée nous est venue d'essayer d'activer le travail de l'immunisation. Les expériences nous ont montré, en effet, qu'en procédant de la sorte, on arrive à réaliser une immunité locale très solide, tout en abrégeant sensiblement la période de l'immunisation. La seule précaution à prendre en ce cas est d'user modérément du sérum antidiphtérique; nous en indiquerons la raison plus bas.

Lapin L. — 8 mai : friction préparante du flanc droit, comme d'ordinaire.

12 mai : friction de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème à 50 unités de toxine; aussitôt après : injection de 0 c. c. 5 de sérum antidiphtérique sous la peau.

20 mai : friction de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème à 100 unités de toxine : on constate une réaction cutanée de peu d'importance de chaque côté.

2 juin : même friction : on n'observe pratiquement aucune réaction de la peau.

(1) *Loco citato.*

En résumé : le Lapin L, préparé d'un seul côté, est soumis, quatre jours plus tard, des deux côtés simultanément, à la friction avec de la crème diphtérique et, aussitôt après, on lui injecte du sérum antidiphtérique. Huit jours plus tard, on recommence la friction avec de la crème diphtérique seule, plus concentrée que la dernière fois : il ne s'ensuit qu'une réaction peu appréciable de la peau. Cette quasi-absence de réaction (le 20 mai) pouvait tenir à ce que le sérum injecté précédemment (le 12 mai) n'était pas encore complètement éliminé. Aussi avons-nous recommencé la friction toxique, vingt jours après que le sérum eût été administré (le 2 juin) : la peau n'en demeura pas moins intacte. Nous sommes donc en présence d'une peau ayant acquis une immunité qui ne relève point de l'antitoxine. Cette immunité est strictement locale : le sérum du Lapin L, examiné d'après le procédé de Römer, ne renfermait pas trace d'antitoxine. La friction de la peau, effectuée en dehors de l'aire des opérations, fit apparaître, d'ailleurs, une forte croûte noire.

Lapin M. — 21 mai : friction préparante de la peau, sur les deux flancs simultanément.

23 mai : friction de la peau des deux côtés, aux mêmes niveaux, avec de la crème à 100 unités de toxine ; aussitôt après : injection sous la peau de 0 c. 5 de sérum antidiphtérique.

Les jours suivants, on assiste à une réaction cutanée d'intensité moyenne de chaque côté.

9 juin : friction de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème à 100 unités, non suivie de sérum ; la réaction de la peau est à peu près nulle.

En résumé : le Lapin M, après avoir acquis une immunité locale non spécifique sur les deux flancs, puis un commencement d'immunité générale passive (le 23 mai), a pu résister à la friction avec une crème à 100 unités, sans présenter de forte réaction cutanée. Seize jours plus tard, au moment où l'immunité due au sérum ne pouvait plus entrer en ligne de compte (1), le lapin mis à l'épreuve comme précédemment n'a pour ainsi dire plus réagi. Nous avons pu nous assurer par des expériences *ad hoc* qu'il s'agissait là d'une cuti-immunité qui était strictement localisée aux flancs antérieurement soumis à la friction.

(1) Dans les expériences sur des lapins neufs, nous avons constaté que le sérum antidiphtérique, injecté aux doses de 0,5 à 2 cent. cubes, n'exerçait plus d'action protectrice sur la peau au delà de dix à douze jours.

Lapin N. — 26 mai : injection sous la peau de 2 cent. cubes de sérum antidiphtérique.

29 mai : friction de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème renfermant 1 cent. cube de sérum normal de cheval pour 10 grammes de lanoline-vaseline.

2 juin, 3 juin et 9 juin : frictions de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème à 100 unités toxiques. Pas de réaction cutanée.

15 juin, soit vingt jours après l'injection d'antitoxine et dix-huit jours après l'action du rasoir : friction de la peau, sur les deux flancs, avec de la crème diphtérique à 100 unités. La peau reste normale.

En résumé : dans cette expérience (*Lapin N*), l'antitoxine appelée à renforcer l'immunité non spécifique de la peau a précédé de plusieurs jours le feu du rasoir. Il fut procédé ensuite, de chaque côté, à 3 frictions (2, 5, 9 juin), au moyen de crèmes à 100 unités, sans qu'il s'ensuivît une réaction cutanée appréciable. L'absence de celle-ci pouvant être mise sur le compte des traces d'antitoxine persistant dans l'économie ou sur le compte de l'effet lointain du feu du rasoir, nous avons attendu encore une semaine environ avant de procéder à la friction d'épreuve (15 juin). Or, cette fois-ci également, la peau resta intacte. Nous en concluons donc à l'existence de l'immunité active; son caractère spécifique découle de la résistance de la peau à une très forte dose de toxine; quant à son caractère local, il ressort de la réceptivité inchangée de la peau avoisinante.

Lapin O. — 23 juin : friction préparante de la peau des deux flancs, comme d'ordinaire; séance tenante, injection sous la peau de 1 cent. cube de sérum antidiphtérique.

27 juin, 30 juin, 3 juillet : friction de la peau des deux flancs avec de la crème diphtérique à 100 unités de toxine. Pas de réaction cutanée.

9 juillet, soit seize jours après la préparation initiale de la peau, friction des deux flancs avec de la crème diphtérique à 100 unités cutanées. Pas de réaction cutanée.

Lapin P. — 27 juin : friction préparante de la peau des deux flancs, comme d'ordinaire; séance tenante, injection sous la peau de 2 cent. cubes de sérum antidiphtérique.

3 juillet, 6 juillet : frictions de la peau des deux flancs avec de la crème diphtérique à 250 unités cutanées. Les jours suivants, rougeur légère de la peau.

En résumé : la préparation préalable qui a consisté dans la friction de la peau, renforcée par l'antitoxine, est suivie de plusieurs applications de crème diphtérique. Au bout de seize jours, dans un cas (*Lapin O*), et de treize jours, dans l'autre

(Lapin P), il devient possible de soumettre la peau ainsi préparée à des épreuves très sévères (100 et 250 unités de toxine), sans déterminer de réaction cutanée. L'absence de cette dernière ne saurait être attribuée à l'immunité passive, attendu que le délai de l'action du sérum était déjà passé ; on ne saurait non plus invoquer l'immunité non spécifique, étant donnée la concentration de la crème employée (100 et 250 unités), très supérieure à celle (30 unités) tolérée par la peau ayant été soumise au feu du rasoir.

De l'ensemble des expériences que nous venons de citer, il résulte que, quel que soit le mode de préparation de l'animal — que l'on procède d'abord à la friction de la peau et que l'on injecte de l'antitoxine ensuite (Lapin M), ou que l'on opère dans le sens inverse (Lapin N), ou bien que les deux opérations soient effectuées simultanément (Lapins O et P), les résultats sont sensiblement les mêmes : en mettant en œuvre les deux facteurs, spécifique et non spécifique, on arrive à préparer la peau de façon qu'elle puisse supporter d'emblée une quantité élevée de toxine, bien supérieure à celle que supporte la peau seulement rasée et frictionnée. Aussi, grâce à cette technique, devient-il possible d'activer notablement le travail d'immunisation et d'obtenir en peu de temps relativement une cuti-immunité spécifique, solide et strictement locale.

V

Pour assurer le succès de la vaccination antidiphthérique, telle que nous venons de la décrire, il y a lieu d'éviter un excès de sérum antidiphthérique, lequel est nuisible à l'établissement de l'immunité active.

La toxine diphthérique, dans les conditions où elle est appliquée dans nos expériences, arrive rapidement au contact de l'antitoxine ; aussi les cellules de la peau se trouvent-elles en présence d'une « toxine sensibilisée » *in statu nascendi*. Cette toxine agit à la manière de « vaccins sensibilisés » connus : antityphique, antipesteux, anticholérique, antidysentérique, anticlaveleux et autres. Les expériences déjà anciennes sur le vaccin antiparatyphique sensibilisé (1), nous ont appris combien

(1) Ces *Annales*, 32, 1918, p. 493.

le sérum spécifique, qui sert à la préparation de ce vaccin, devient nuisible dès qu'il est en excès, si faible soit-il : en ce dernier cas l'immunité, au lieu d'être active, devient passive, donc, de très courte durée.

C'est pour éviter cette éventualité qu'il y a lieu de réduire au strict minimum la dose de sérum antidiphtérique dans la phase préparatoire de la vaccination. On y arrive en établissant, entre le sérum et la toxine, un intervalle de huit à dix jours, de façon que la majeure partie de l'antitoxine se trouve éliminée au moment de l'arrivée de la toxine. On peut aussi, dans le même but, renouveler les applications de toxine pendant la période de dix à douze jours que dure l'immunité passive : si les premières applications de toxine, plus ou moins neutralisées par l'antitoxine, ne sauraient faire office de réel vaccin sensibilisé, ces conditions se réalisent au fur et à mesure que l'antitoxine libre s'élimine de l'organisme ; il arrive ainsi un moment où l'on a affaire à de la toxine dûment sensibilisée.

La vaccination antidiphtérique que nous venons de décrire rappelle par certains de ses côtés celle recommandée autrefois par Th. Smith, que nous avons rapprochée déjà à l'époque (1) de la vaccination par virus sensibilisés. L'idée de Th. Smith fut reprise ultérieurement, on le sait, par Behring et mise en pratique sous forme de mélanges hypo ou hyperneutralisés de toxine et d'antitoxine.

Pour nous résumer : considérée dans son ensemble, la vaccination par voie cutanée, exposée dans le présent mémoire, repose sur l'élaboration d'une triple immunité :

- a) non spécifique que produit le feu du rasoir,
- b) passive que confère l'injection de sérum antidiphtérique,
- c) active qui est due à l'application de toxine diphtérique.

L'avantage de cette triple vaccination réside dans la solidité de la cuti-immunité locale et dans la rapidité avec laquelle celle-ci s'établit. Notons, en terminant, que tout en offrant l'exemple le plus démonstratif de l'immunité locale, la cuti-immunité antidiphtérique est susceptible avec le temps de changer de caractère et de devenir progressivement générale.

(1) *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 8, 1910, p. 252.

CONCLUSIONS.

I. La friction de la peau rasée avec une crème anodine confère une immunité cutanée locale vis-à-vis de la toxine diphtérique appliquée sur la peau.

II. L'effet de la friction de la peau au moyen de la toxine diphtérique, chez l'animal ayant reçu du sérum antidiphtérique, varie suivant que le sérum précède ou suit la friction : quand le sérum précède la toxine, il n'y a pas de réaction cutanée, alors même que la crème diphtérique présente le maximum de sa concentration ; quand le sérum suit la toxine, il cesse d'être efficace, dès que l'intervalle entre eux dépasse une demi-heure.

III. Chez l'animal antérieurement frictionné, et ayant reçu du sérum antidiphtérique, l'immunité non spécifique de la peau se trouve renforcée par l'immunisation passive ; la nature de l'immunité locale due au feu du rasoir est donc distincte de celle de l'immunité spécifique.

IV. Sous le couvert de l'immunité obtenue par friction conjuguée avec celle que confère une petite quantité d'antitoxine, on arrive à faire supporter à l'animal par la peau des doses massives de toxine et à activer de la sorte l'apparition d'une cuti-immunité antidiphtérique locale, très solide.

V. Cette cuti-immunité spécifique est l'aboutissant de la cuti-vaccination locale par « toxine sensibilisée ».

SUR LA NEUTRALISATION DES PROPRIÉTÉS TOXIQUES DU SULFATE NEUTRE DE STRYCHNINE,

par A.-C. MARIE [1].

Parmi les différents modes de neutralisation des alcaloïdes (hydratation, réduction, etc.), celui de l'oxydation est un des plus importants : il a fait l'objet d'expériences *in vitro* que nous avons poursuivies sur le sulfate neutre de strychnine. Parmi celles-ci, nous rappellerons d'abord les essais de Baudran [2]. Pour neutraliser cet alcaloïde, il le traitait par le *permanganate de calcium* pendant plusieurs jours, à 37°; d'après ce savant, le *permanganate de potassium* ne donnait pas les mêmes résultats.

Nous avons repris les expériences de Baudran, mais en soumettant le sulfate de strychnine à l'action du *permanganate de potassium*, et nous avons constaté qu'il neutralise environ son poids de sulfate neutre de strychnine : ainsi 0 gr. 00003 de *permanganate de potassium* rendent inoffensives, pour des souris d'un poids moyen de 12-15 grammes, 2 doses mortelles de l'alcaloïde (D. M. M. = 0 gr. 000 025). Avec le *permanganate de calcium*, Baudran trouvait qu'il fallait une dose *décuple* de celle de l'alcaloïde pour le neutraliser.

En nous basant sur les proportions indiquées ci-dessus, nous avons aussi exposé à 38°, en tube scellé, un mélange représentant 0 gr. 005 de *permanganate de potassium* et 0 gr. 005 de sulfate de strychnine (200 D. M. M. pour la souris). Le mélange vire très rapidement au brun; au bout de dix jours, on le dessèche et le reprend par l'eau : on peut alors l'injecter dans la veine d'un lapin, qui ne manifeste aucun trouble à la suite de l'injection de ce mélange, lequel représente quelque 20 doses mortelles pour lui (D. M. M. = 0 gr. 0001 par kilogramme en injection intraveineuse).

D'ailleurs, il n'est pas nécessaire d'exposer longuement à 38° des mélanges semblables; dans des proportions comparables, les deux corps, sulfate de strychnine et *permanganate de potas-*

sium, ont été mélangés et injectés à des souris de façon que chacune d'elles, d'un poids de 12 à 14 grammes, avait reçu 66 doses mortelles de sulfate de strychnine : aucun de ces animaux n'a présenté la moindre exagération de la réflectivité.

Ainsi, le permanganate de potassium s'est montré, dans nos expériences, beaucoup plus actif que le permanganate de calcium utilisé dans les expériences de Baudran. De plus, contrairement aux résultats signalés par ce savant, qui avait vu le cobaye, traité par ces mélanges neutres, résister à une dose mortelle de l'alcaloïde, nous n'avons pu reproduire ce résultat chez le cobaye, de même que nous n'avons jamais vu de souris supporter une seule dose mortelle de sulfate de strychnine après l'administration de grandes quantités de l'alcaloïde, neutralisées par le permanganate de potassium. Il est d'ailleurs reconnu, et nous-même l'avons souvent observé, que le cobaye constitue une espèce infidèle dans ses réactions vis-à-vis du sulfate de strychnine.

*
* *

Peu d'années après l'isolement, par Takamine, de l'adrénaline, Exner [3] étudia ses effets sur les sels de strychnine. Il trouva que cet alcaloïde, injecté à des animaux soumis auparavant à l'action de l'adrénaline, provoquait le strychnisme avec un retard assez considérable, ce qu'il expliquait par l'action empêchante de l'adrénaline dans la résorption de la strychnine.

Plus tard, Falta et Ivovic [4] prétendirent que le cobaye résistait à l'injection d'un mélange d'adrénaline seule et d'une dose mortelle d'azotate de strychnine, phénomène qu'ils attribuaient à un antagonisme chimique entre les deux substances.

De tels résultats n'ont pas été confirmés.

Nous-même, dans nos recherches, nous n'avons jamais observé de pouvoir empêchant, soit de l'adrénaline base ou de l'un de ses sels, soit d'une émulsion de glande surrénale, en faisant agir ces préparations seules sur le sulfate ou sur l'azotate de strychnine. Ainsi, dans une de nos expériences, inspirée de celles de Falta et Ivovic, un cobaye de 385 grammes reçoit sous la peau un mélange de 0 gr. 004 de sulfate de strychnine et de 3 c. c. 50 d'une solution saturée d'adrénaline base : il succombe au strychnisme trente minutes après l'injection.

Pourtant, les relations observées (1) entre la présence de la strychnine dans l'organisme et la sécrétion des glandes surrénales engageaient à reprendre cette question.

Si l'adrénaline, par elle seule, est incapable de neutraliser le sulfate de strychnine, nous allons montrer qu'il en va tout autrement en faisant agir sur cet alcaloïde le sang, inactif par lui seul, concurremment avec l'adrénaline, ou bien avec des préparations de glande surrénale. Nos recherches ont été faites chez la souris, et en utilisant le plus souvent la glande surrénale du cheval, desséchée sous le vide sulfurique, et dans laquelle l'adrénaline joue un rôle essentiel dans cette action.

On expose à 38°, pendant trois ou quatre heures, les préparations suivantes :

1° Sang citraté de cobaye, en centimètres cubes.	2,50
Sulfate de strychnine (2 D.M.M.), en gramme	0,00005
2° Emulsion décimale de surrénale, en centimètre cube.	1
Sulfate de strychnine, en gramme	0,00005
3° Sang citraté de cobaye, en grammes.	2,50
Sulfate de strychnine, en gramme	0,00005
Emulsion décimale de surrénale, en centimètre cube.	1

Le tableau suivant donne les résultats de cette expérience, choisie parmi plusieurs autres.

TABLEAU I.

ANIMAUX	PRÉPARATIONS	RÉSULTATS
1. Souris 15 grammes.	Sang + sulfate de strychnine.	Strychnisme et mort.
2. Souris 18 grammes.	Surrénale + sulfate de strychnine.	Strychnisme et mort.
3. Souris 16 grammes.	Sang + sulfate de strychnine + surrénale.	∞.
4. Souris 20 grammes.	Sulfate de strychnine 0,00005.	Strychnisme et mort.

Comme on le voit (tableau I), les préparations de glande surrénale se sont montrées capables de neutraliser le sulfate de strychnine, mais seulement à la condition d'y ajouter du sang.

Nous avons obtenu des résultats semblables, non seulement

(1) STEWART et ROGOFF, notamment (*Pharm. a. exper. Therapie*, mai 1919 p. 95), ont montré que la strychnine, même à dose médicamenteuse, augmente notablement la sécrétion d'adrénaline. Cette hypersécrétion peut atteindre jusqu'à dix fois le volume initial.

avec cette dose de 0 gr. 00005 (2 D. M. M.) de sulfate de strychnine, mais avec des quantités deux et trois fois plus considérables, c'est-à-dire avec 3, 4, 5 et 6 doses mortelles pour la souris. Toutefois, le phénomène n'est pas constant, et si l'on tient compte seulement des expériences où les animaux n'ont manifesté même aucune exagération de leur réflexivité, nous l'avons observé pour une moyenne de 70 à 80 p. 100 des souris injectées.

Il est inutile de faire observer qu'aucun de ces animaux n'a présenté, par la suite, de résistance pour une seule dose mortelle de sulfate de strychnine, même après plusieurs injections similaires : on a reconnu depuis longtemps l'impossibilité d'accoutumer les animaux à l'action d'une seule dose mortelle d'un poison hyperesthésiant.

Presque toujours, les souris ont offert quelques signes d'intoxication par l'adrénaline des surrénales, mais si l'on considère le cas des animaux injectés avec un mélange d'émulsion surrénale et de sulfate de strychnine, sans addition de sang, on voit que ces animaux succombent aux accidents du strychnisme, sans que les troubles dus à l'adrénalinémie aient pu retarder le strychnisme ou en masquer les effets, si bien que ces souris meurent en même temps que les témoins injectés avec du sulfate de strychnine seul.

Dans ces expériences, nous avons trouvé que les pigments colorants (1) du sang, l'hémoglobine et l'oxyhémoglobine, que contiennent les hématies, sont indispensables au phénomène de neutralisation du sulfate de strychnine; mais il suffit de provoquer la désunion des hématies et des matières colorantes par un procédé tel que le laquage du sang pour empêcher la neutralisation de se faire. Le sérum, de même que les éléments figurés du sang, autres que les globules rouges, reste inactif.

*
* *

Depuis que Schiff a, en 1877, déclaré que le foie arrête et transforme certains alcaloïdes, il est devenu classique

(1) Les préparations que l'on trouve dans le commerce sous le nom d'hémoglobine n'ont pu nous servir. D'ailleurs, on sait que la plupart des propriétés et des réactions de cette chromoprotéine peuvent être étudiées directement avec du sang, si bien que l'isolement de l'hémoglobine n'est pas nécessaire.

d'admettre comme démontrée l'action antitoxique de cette glande; même on ajoute qu'il y aurait parallélisme entre sa fonction glycogénique et ce pouvoir antitoxique, dont le mécanisme était resté inconnu.

D'autre part, les expériences précédentes nous ayant montré l'action conjointe des extraits de capsule surrénale et du sang dans la neutralisation du sulfate de strychnine, l'importance attribuée, dans ce phénomène, aux pigments sanguins nous conduisait à leur substituer les pigments biliaires, qui dérivent des matières colorantes du sang, en particulier, du groupe prosthétique hématine des pigments sanguins, transformation opérée notamment par le foie (1), dans lequel la bile est sécrétée, indistinctement aux dépens du sang de l'artère hépatique ou de celui de la veine porte, afférente du foie. Toutefois la difficulté de se procurer des pigments biliaires à l'état pur (2) a limité provisoirement nos expériences à l'étude de l'action de la bile (de bœuf).

Seule, elle n'exerce aucune action discernable sur la toxicité du sulfate de strychnine. Mais, si l'on introduit dans les mélanges bile-sulfate de strychnine une quantité convenable d'une émulsion de capsule surrénale desséchée sous le vide sulfurique, ou bien d'adrénaline, on peut voir jusqu'à 6 et 7 doses mortelles de l'alcaloïde être neutralisées après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve. Voici l'une de ces expériences (tableau II).

Ainsi (tableau II), les sels biliaires n'ont pas d'action, non plus que les lipides de la bile (lécithine, cholestérine), ou que le nucléoprotéide (ancienne pseudo-mucine). Au contraire, tandis que la bile, par elle seule, ne peut neutraliser 2 doses mortelles de sulfate de strychnine, elle peut, au contact d'une émulsion de surrénale, ou d'adrénaline base, neutraliser jusqu'à 6 (et même 7) doses mortelles de l'alcaloïde (souris de 15 à 20 grammes).

Si, en raison de leur origine aux dépens des pigments sanguins, il est logique de supposer que les pigments biliaires

(1) On ne sait encore si cet organe est l'unique lieu de production de ces pigments; il est possible qu'elle se fasse dans la plupart des tissus.

(2) Les prix commerciaux des pigments biliaires purs (?) sont de l'ordre de 1.100 fr. le gramme.

doivent, dans cette neutralisation, constituer un des principes essentiels, on voit aussi (tableau II) que, par exclusion, on doit

TABLEAU II.

ANIMAUX	PRÉPARATIONS (VINGT-QUATRE HEURES A 38°)	RÉSULTATS
Souris 1.	Taurocholate de soude, en gramme. Glycocholate de soude, en gramme. Emulsion de surrénale, en centimètre cube. Sulfate de strychnine (1 D. M. M.), en gramme.	à 0,00012 0,25 0,000025 Mort par strychnisme.
Souris 2.	Cholestérine, en gramme. Lécithine, en gramme. Emulsion de surrénale, en centimètre cube. Sulfate de strychnine, en gramme.	0,02 0,05 0,25 0,000025 Mort par strychnisme.
Souris 3.	Nucléoalbumine biliaire (extrait de 10 cent. cubes de bile de bœuf et dissous dans carbonate de soude), en centimètre cube. Emulsion de surrénale, en centimètre cube. Sulfate de strychnine, en gramme.	0,10 0,25 0,000025 Mort par strychnisme.
Souris 4.	Emulsion de surrénale, en centimètre cube. Bile (de bœuf), en centimètre cube. Sulfate de strychnine (6 D. M. M.), en gramme.	0,25 1 0,00015 ∞.
Souris 5.	Adrénaline base à saturation, en centimètre cube. Bile (de bœuf), en centimètre cube. Sulfate de strychnine (6 D. M. M.), en gramme.	0,25 1 0,00015 ∞.
Souris 6.	Bile (de bœuf), en centimètre cube. Sulfate de strychnine (2 D. M. M.), en gramme.	1 0,00005 Mort par strychnisme.

leur accorder un rôle important dans cette neutralisation par des mélanges bile-glande surrénale.

On voit, d'autre part, que l'émulsion de la glande surrénale

desséchée agit, dans ces préparations, par l'adrénaline qu'elle contient, puisqu'il est possible de remplacer cet extrait de surrénales par leur sécrétion la plus importante, l'adrénaline base (ou l'un de ses sels).

Sous quelle forme le sulfate de strychnine se trouve-t-il ainsi transformé en un composé atoxique? Pour récupérer l'alcaloïde, nous avons utilisé la solubilité partielle de la *strychnine base* dans l'éther sulfurique ordinaire. Voici l'une de ces recherches.

On expose à 38°, en tubes scellés, pendant vingt-quatre heures, les trois mélanges suivants :

1° Bile filtrée, en centimètres cubes	2
Sulfate de strychnine (10 D.M.M.), en gramme	0,00025
Eau distillée, pour 5 cent. cubes	Q. S.
2° Adrénaline base à saturation, en centimètre cube. . .	0,50
Sulfate de strychnine, en gramme	0,00025
Eau distillée, pour 5 cent. cubes	Q. S.
3° Bile filtrée, en centimètres cubes	2
Adrénaline base à saturation, en centimètre cube . .	0,50
Sulfate de strychnine, en gramme	0,00025
Eau distillée, pour 5 cent. cubes	Q. S.

De chacun de ces mélanges, la moitié est inoculée telle quelle à une souris; l'autre moitié sert à la récupération de la strychnine base. Pour cela, après alcalinisation au moyen d'une solution décimale de bicarbonate de soude, on agit fortement la préparation avec de l'éther sulfurique ordinaire, que l'on renouvelle et soutire, au moyen d'un entonnoir à robinet, dans un verre de montre où le résidu, après évaporation de l'éther, est repris soigneusement par l'eau distillée.

Voici les résultats de l'injection à des souris de 15-20 grammes (tableau III). Cette expérience, choisie parmi plusieurs autres, montre que dans les préparations 1 et 2, contenant seulement l'un ou l'autre des deux principes actifs, bile ou adrénaline, le sulfate de strychnine n'a pas été neutralisé, a donc conservé sa toxicité, soit qu'il s'agisse du mélange, soit de son extrait éthéré; au contraire, dans le mélange 3, la moitié, correspondant à 5 doses mortelles, s'est montrée inoffensive pour la souris : le sulfate de strychnine y avait été neutralisé.

En outre, récupérée au moyen de l'éther sulfurique ordinaire, la strychnine base s'est encore montrée tout à fait atoxique. Mais traitée au bain-marie par un réducteur, tel que l'hyposul-

fite de sodium, une portion (le quart de l'extrait étheré) du mélange 3 a retrouvé sa toxicité (1).

Ce n'est donc pas seulement, comme on pouvait le supposer, en raison d'une sorte d'action de collage sur la bile, phénomène dû à ses pigments (combinaisons salines de bilirubine

TABLEAU III.

PRÉPARATIONS	INJECTION de 1/2 de la préparation	RÉSIDU épuisé par l'éther	1/4 DE L'EXTRAIT ÉTHÉRÉ	1/4 DE L'EXTRAIT ÉTHÉRÉ traité par l'hyposulfite de sodium
1°	Mort par strychnisme.	Rien.	Mort par strychnisme.	»
2°	Mort par strychnisme.	Rien.	Mort par strychnisme.	»
3°	∞.	Rien.	∞.	Mort par strychnisme.

et de biliverdine) (2) que ceux-ci agiraient sur le sulfate de strychnine; mais, avant tout, il faut admettre, ainsi que le démontrent nos expériences, une *oxydation* préalable de l'alcaloïde, que rend possible la présence d'une substance, elle-même très oxydable, comme l'adrénaline (3).

(Institut Pasteur.)

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A.-C. MARIE. *C. R. Soc. de Biol.*, **105**, p. 744, 846 et **107**, p. 574 et 695.
- [2] BAUDRAN. *C. R. Acad. des Sciences*, **139**, p. 1060.
- [3] EXNER. *Zeits. f. Heilk.*, **4**, p. 302.
- [4] FALTA et IVCOVIC. *Berl. klin. Woch.*, **43**, p. 1929.
- [5] J. ROEST. *Bioch. Zeits.*, **166**, p. 17.

(1) Le même procédé de récupération de la strychnine base réussit également avec les mélanges hématies-glandes surrénales-sulfate de strychnine.

(2) Puisque les pigments biliaires sont considérés comme des produits de régression de la matière colorante des hématies, on doit admettre que le foie, en débarrassant l'économie de ces éléments toxiques, élimine en même temps les alcaloïdes qui sont entraînés par eux.

(3) A titre de comparaison, on peut mentionner les recherches de J. ROEST [5] qui a montré que l'adrénaline, agissant comme catalyseur, peut trans porter l'oxygène sur une substance de structure chimique connue, en l'espèce une amine (*p*-phénylènediamine).

ÉTUDE SUR LA SYMBIOSE DU VIBRION CHOLÉRIQUE AVEC LE BACTÉRIOPHAGE

REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE DES VARIATIONS DES CARACTÈRES BIOLOGIQUES DES VIBRIONS CHOLÉRIGÈNES

par W. DOORENBOS. M. D.,

Directeur du Laboratoire de Chatby
du Conseil sanitaire maritime et quarantenaire d'Egypte, à Alexandrie.

La découverte à Tor [1], en 1930-1931, de vibrions agglutinables et hématolytiques a donné lieu à des discussions sur la valeur de ces caractères dans l'identification du vibron.

Une étude détaillée de ces souches [2] m'a démontré que ces vibrions présentaient des *variations* dans leurs caractères d'agglutinabilité, qu'ils étaient fortement hématolytiques pour les globules rouges du sang de diverses espèces d'animaux, ainsi que pour le sang humain.

Il fut démontré également que ces souches présentaient spontanément des signes de bactériophagie (souches lysogènes), et qu'elles montraient une forte résistance à l'action du bactériophage anticholérique.

Au cours des recherches sur l'hématolyse, une nouvelle propriété du vibron cholérique fut mise à jour: celle de l'*hémato-agglutination*, dont l'étude nous a conduit à l'observation des variations dans les caractères biologiques du vibron au cours de sa croissance, observation dont la valeur théorique s'impose [3].

Le phénomène de l'hémato-agglutination par le vibron cholérique a été trouvé par nous dans le Laboratoire du Conseil quarantenaire d'Egypte à El Tor (juin 1931).

Nous avons fait, avec des vibrions récemment isolés, des émulsions en eau salée physiologique, ensuite nous avons ajouté à celles-ci quelques gouttes d'une suspension de globules rouges de mouton. Après quelques minutes, nous avons

remarqué que le sang avait pris une couleur violacée et commençait en même temps à s'agglutiner en petits flocons, qui tombaient rapidement au fond des tubes. Dans les tubes d'eau salée sans vibrions, pris comme témoins, le sang avait conservé sa couleur rouge clair et ne montrait aucune trace d'agglutination.

En étudiant ce phénomène en détail, nous avons pu établir les faits suivants :

1° La réaction se produit à l'étuve à 37° comme également à 0°.

2° L'intensité de la réaction dépend :

a) De l'âge de la culture ;

b) Du milieu ;

c) De l'espèce du sang.

3° Les hémato-agglutinines des vibrions sont *inactivées* par un chauffage de cinq minutes à 64°.

4° Les hémato-agglutinines sont absorbées par les globules rouges.

5° Certaines souches possèdent la propriété hémato-agglutinante seulement pendant une courte période de leur évolution sur les milieux artificiels. Après quelques heures d'étuve, la propriété se manifeste soudainement, pour disparaître aussi soudainement, quand la culture devient plus âgée.

Il est évident que, dans ce cas, les hémato-agglutinines formées sont *inactivées* dans les cultures par la production, par le vibron, d'autres produits biologiques qui neutralisent le pouvoir des premières.

6° Les hémato-agglutinines empêchent les hémato-lysines d'agir au complet et vice-versa.

L'action du vibron sur les globules rouges est évidemment un phénomène extrêmement compliqué, encore fort peu connu, et qui appelle de nouvelles recherches.

Les vibrions produisent une série d'enzymes qui agissent sur les différents constituants des globules rouges et les réactions que nous observons *varient* avec l'âge de la souche et le milieu de culture. Chez une souche âgée de dix-huit à vingt-quatre heures, un certain équilibre s'est produit entre ces différentes substances, et pour observer l'action des diverses enzymes séparément il est nécessaire d'étudier l'action des souches en pleine croissance d'âges différents.

Donc, l'étude des caractères biologiques des microbes en pleine croissance nous a réservé des surprises et cette méthode de recherche nous révélera des nouveaux phénomènes qui, jusqu'à ce jour, ont échappé à notre observation.

*
* *

Tout récemment (en octobre 1931), on a trouvé en Syrie des porteurs de vibrions chez des voyageurs venant de l'Irak, où sévit actuellement le choléra sous forme épidémique et le D^r Millisher, chef du service bactériologique en Syrie, nous a envoyé 6 souches de vibrions cholériques isolées au lazaret de Jissr-Thora, ainsi qu'une souche isolée à Bassorah d'un cas clinique de choléra.

En étudiant les caractères biologiques de ces souches, nous trouvons :

1° Qu'elles sont toutes agglutinables et toutes sensibles au bactériophage.

2° Qu'elles montrent une forte hémato-agglutination pour le sang de cobaye, et une faible hémato-agglutination pour le sang de chèvre ;

3° Que la réaction de l'hématolyse donne un résultat *négatif* avec le sang de chèvre et une réaction *positive* avec le sang de cobaye.

Que devons-nous donc en conclure ? Et devons-nous considérer ces souches comme hématolytiques ou non ?

On pourra faire remarquer qu'il ne faut pas utiliser le sang de cobaye, parce que les hématies de cet animal sont trop fragiles et *décéder* qu'il faut considérer seulement le résultat obtenu avec le sang de chèvre ou de mouton ; mais, d'autre part, nous possédons des vibrions cholériques qui n'hémolysent pas le sang de cobaye, pas plus que celui du mouton.

En appliquant la méthode d'analyse des caractères biologiques des vibrions dans les phases diverses de leur croissance, nous avons même constaté qu'une souche de vibrions âgée de six heures hémolysait le sang de cobaye, tandis que la même souche âgée de vingt-quatre heures n'hémolysait plus.

Comment peut-on donc expliquer la disparition des hématolysines présentes dans la jeune culture ?

Une explication qui s'impose est que les hémato lysines présentes dans la culture sont neutralisées plus tard par des *anti-hémato lysines* qui se forment dans la culture plus âgée.

Si cette supposition est fondée, on devrait pouvoir démontrer la présence de ces anti-hémato lysines dans les cultures des vibrions non hémato lytiques âgées, par exemple, de vingt-quatre heures et nos expériences démontrent que c'est précisément le cas.

Les souches de vibrions que nous avons isolées à Tor sont fortement hémato lytiques; les dilutions de 1/10.000-1/100.000 d'anse de culture dans de l'eau salée physiologique donnent encore une hémato lyse complète au bout de quelques heures.

En ajoutant à ces diverses dilutions une anse de culture prise d'une souche hémato lytique, âgée de vingt-quatre heures, on remarque que l'hémato lyse est inhibée dans les dilutions les plus élevées, ce qui démontre la présence des substances *anti-hémato lytiques* dans ces souches.

On n'a jamais signalé cette propriété anti-hémato lytique des vibrions cholériques, et c'est donc un nouveau caractère biologique que nous avons pu mettre en lumière avec précision.

INFLUENCE DU BACTÉRIOPHAGE ANTICHOLÉRIQUE SUR LE POUVOIR HÉMATOLYTIQUE DU VIBRION CHOLÉRIQUE.

Des souches de vibrions cholériques ont été mises en contact avec le principe lytique anticholérique et les caractères d'agglutinabilité, sensibilité au bactériophage, pouvoir hém-agglutinant et hémato lytique des cultures secondaires, résistance au bactériophage ont été comparés avec ceux des souches originelles.

Les souches originelles et les mêmes souches contaminées artificiellement par le bactériophage anticholérique ont été ensemencées en strie sur des plaques de gélose-gélatine et de chaque souche 5 ou 10 colonies isolées ont été examinées.

Nous avons pu démontrer que :

1° Les souches originelles sont toutes sensibles au bactériophage et non hémato lytiques pour le sang de chèvre;

2° La plupart des cultures contaminées artificiellement par

le bactériophage ont manifesté une forte résistance vis-à-vis de ce bactériophage;

3° Sur 70 cultures contaminées artificiellement par le bactériophage, 14 étaient devenues fortement hématolytiques pour le sang de chèvre;

4° Les souches originelles montraient une certaine régularité dans les caractères biologiques étudiés chez des colonies isolées, tandis que les souches contaminées par le bactériophage montraient par contre des grandes différences dans ces caractères.

La transformation artificielle des vibrions agglutinables et non hématolytiques en des vibrions agglutinables et hématolytiques (vibrions de Tor) a donc été réalisée, et cela par l'intermédiaire du bactériophage anticholérique.

En continuant nos recherches, nous avons pu démontrer que les variantes hématolytiques obtenues artificiellement n'étaient pas stables. Après ensemencement en stries sur plaque et en examinant le pouvoir hématolytique des différentes colonies isolées, on constate de nouveau la présence des colonies non hématolytiques parmi les hématolytiques.

Ces deux types de colonies, repiquées, donnent de nouveau des colonies hématolytiques et non hématolytiques.

Nous avons dit plus haut que les souches non hématolytiques sont en réalité antihématolytiques et nous arrivons donc à la conclusion importante que *la présence ou l'absence du caractère hématolytique dépend seulement de la proportion des éléments hématolytiques et antihématolytiques présents dans la même souche.*

Une autre observation importante faite au cours de ces recherches est la suivante : *il y a des souches de vibrions qui ne sont pas hématolytiques pour le sang de chèvre, mais qui le sont pour le sang de mouton et vice-versa..*

Les caractères biologiques des vibrions contaminés par le bactériophage ne sont pas stables; on pourra les considérer comme des hybrides, qui ne donnent plus une ligne pure de descendants.

Intéressante à ce sujet est une observation de Kabeshima [6] qui a étudié, en 1922, une souche de vibrions cholériques provenant de Shanghai. L'examen des colonies isolées de cette

souche lui démontrait la présence de colonies agglutinables et non agglutinables.

Les colonies non agglutinables donnèrent de nouveau des colonies agglutinables et non agglutinables et il pouvait produire ce phénomène à l'infini.

Comme nous l'avons dit plus haut, nous avons observé le même phénomène en ce qui concerne le caractère d'hématolyse : mais, en même temps, nous avons démontré la cause de cette variabilité; *les vibrons présentant de tels caractères sont des vibrons cholériques contaminés par le bactériophage.*

POUVOIR HÉMODIGESTIF.

D'après van Loghem ⁴, il faut différencier l'hématolyse, qui se produit surtout en milieu liquide, de l'hémodigestion, qui se produit sur les plaques de gélose additionnées de sang.

Sur les plaques de gélose-sang,ensemencées avec une souche hémodigestive, la couleur rouge du sang disparaît au-dessous et autour des colonies et le milieu devient en même temps clair et transparent.

En utilisant le sang d'animaux divers, le vibron cholérique montre, sur les plaques de gélose-sang, le phénomène de l'hémodigestion; il se forme un « halo » clair et transparent autour des stries, mais il n'y a pas d'hématolyse (v. Loghem), tandis que le vibron de Tor montre les deux phénomènes en même temps; mais, dans ce dernier cas, l'hémodigestion est moins prononcée, la zone claire est teintée de rose, signe d'hématolyse forte.

En utilisant le sang de chèvre, nous avons pu observer ce phénomène en comparant un vibron cholérique avec une souche type de vibron de Tor, et la différence entre ces deux souches était indiscutable. Le phénomène pourra donc servir *pour différencier le vibron cholérique du type épidémique d'un vibron de Tor.*

Mais la question qui se pose est la suivante : pourra-t-on différencier de cette façon un vibron cholérique contaminé par le bactériophage d'un vibron de Tor?

Nous avons étudié le pouvoir hémodigestif de deux séries de trente cultures en bouillon; l'une sans bactériophage, et l'autre

contaminée par le bactériophage, en utilisant des plaques de gélose-gélatine à 10 p. 100 de sang de chèvre défibriné. De chaque culture en bouillon, une anse estensemencée soigneusement en stries pour obtenir des colonies isolées de vibrions. Les plaques ont été placées à l'étuve et, après quarante-huit heures d'incubation, le pouvoir hémodigestif de 50 colonies isolées de chaque plaque a été noté.

De cette façon, nous avons trouvé *une grande différence entre le pouvoir hémodigestif des souches de vibrions ultrapures et celui des mêmes souches contaminées par le bactériophage.*

Chez les premières, toutes les colonies étudiées sont fortement hémodigestives, tandis que chez les autres ce pouvoir est en général beaucoup plus faible et disparaît même complètement pour un certain nombre de colonies.

Une autre différence, à remarquer entre ces deux séries, est la complète régularité qu'on observe chez le vibron cholérique ultrapur et la grande irrégularité qu'on observe chez le vibron cholérique contaminé par le bactériophage.

Cette expérience montre, encore une fois, que *des variations dans les caractères biologiques des vibrions se produisent sous l'influence du bactériophage.*

INFLUENCE DU BACTÉRIOPHAGE SUR LA PRODUCTION D'INDOL ET SUR LE POUVOIR PROTÉOLYTIQUE DU VIBRION CHOLÉRIQUE.

Ces deux caractères ont été étudiés et comparés dans deux séries de trente cultures, l'une sans bactériophage et l'autre contaminée artificiellement par le bactériophage.

Les souches furentensemencées par piqûres dans des tubes de gélatine et dans de l'eau peptonée. La réaction du rouge choléra fut essayée après vingt-quatre heures d'étuve en ajoutant à chaque culture en eau peptonée V gouttes d'acide sulfurique pur.

Ces expériences nous ont démontré qu'on peut observer des variations dans la production d'indol, si on étudie ce pouvoir chez des colonies isolées de la même souche. Même les souches originelles non contaminées artificiellement par le bactériophage montrent cette variation. Pour les souches contaminées par le bactériophage, la réaction du rouge choléra est en général

plus forte et la variation, pour les colonies isolées de la même souche, est beaucoup plus grande.

Les cultures en eau peptonée des souches originelles avaient poussé abondamment et montraient un voile bien développé : les cultures en eau peptonée des souches contaminées par le bactériophage ont poussé moins abondamment, le milieu était parfois clair avec des grumeaux, et le voile était en général beaucoup moins développé.

Le pouvoir protéolytique (liquéfaction de la gélatine) montre également des variations pour les souches originelles ; mais pour les souches contaminées par le bactériophage les variations sont beaucoup plus prononcées ; parfois, le pouvoir protéolytique avait disparu.

LES VARIATIONS DANS L'AGGLUTINABILITÉ DU VIBRION CHOLÉRIQUE.

Les souches de vibrions isolées à Tor pendant le pèlerinage de 1930 ont donné lieu à des discussions en ce qui concerne leur agglutinabilité par des sérums agglutinants de provenances diverses.

À première vue, la cause de cette discordance entre les résultats obtenus dans différents laboratoires en Egypte ainsi qu'en Europe paraissait incompréhensible.

La recherche du pouvoir agglutinant du vibron cholérique authentique ne présente pas en général des difficultés extraordinaires ; la technique est simple et, en utilisant un sérum authentique, l'agglutination se produit rapidement.

Il semble que le titre du sérum ait peu d'importance : un sérum titrant par exemple 1/4.000 donne des résultats aussi satisfaisants qu'un autre titrant 1/50.000.

Or, il existe des souches de vibrions qui ont été conservées dans les laboratoires pendant des dizaines d'années, et elles s'agglutinent aussi fortement qu'immédiatement après leur isolement.

Quelle peut être donc la cause de la différence entre les résultats de la recherche de l'agglutinabilité, observée dans les souches des vibrions isolés à Tor en 1930 ?

Comme nous l'avons déjà dit dans un article précédent [2], nous sommes arrivés à la conclusion que la propriété d'agglu-

tinabilité, quoique stable pour un vibron cholérique authentique, devient *instable* si ce vibron est contaminé par le bactériophage de d'Hérelle.

Dans ce même article, nous avons proposé de dénommer, le premier, le *Vibrio cholerae typus epidemicus* et l'autre, le *Vibrio cholerae typus endemicus*, en considérant que ces deux types sont essentiellement réversibles.

Dans la présente étude, nous avons comparé le pouvoir hémolytique des vibrions cholériques ultrapurs avec celui des mêmes souches, mais contaminées artificiellement par le bactériophage, et, comme nous l'avons constaté, il a été possible d'obtenir des variantes hémolytiques de souches qui étaient d'abord non hémolytiques.

Comparons donc l'agglutinabilité des souches originelles avec celle des souches contaminées par le bactériophage.

Des cultures en gélatine de 35 souches originelles et de 35 cultures contaminées par le bactériophage, qui avaient été conservées à la température de laboratoire pendant dix-huit jours, furent ensemencées sur des tubes de gélose-gélatine.

L'agglutinabilité des cultures ainsi obtenues fut déterminée en utilisant un sérum agglutinant titrant au moins 1/25.000.

L'agglutination se produisait d'une façon tout à fait régulière en flocons et en granules chez les 35 souches originelles; mais, parmi les 35 souches lysogènes plusieurs agglutinations étaient en granules extrêmement fins, à peine visibles à l'œil nu.

Deux de ces souches qui montraient cette irrégularité d'une façon très prononcée ont été choisies pour une recherche un peu plus détaillée.

Nous avons ensemencé ces deux souches en stries sur plaques de gélose-gélatine, et, de chaque plaque, j'ai repiqué dix colonies sur tubes de gélose-gélatine. Comme témoins, nous avons pris les 2 souches originelles ultrapures de ces mêmes souches, qui ont été traitées de la même façon.

Nous avons donc ainsi 20 souches contaminées par le bactériophage et 20 souches ultrapures, et nous avons comparé le pouvoir agglutinant de ces souches en utilisant deux sérums agglutinants, l'un titrant 1/25.000 et l'autre titrant 1/4.000.

Chez les 20 souches ultrapures, l'agglutination se produisait en flocons et en granules et la clarification était complète. Les

deux sérums avaient donc donné des résultats tout à fait réguliers et comparables.

Les souches lysogènes, quoique encore agglutinables, montraient une grande différence avec les souches originelles.

Elles étaient toutes agglutinables avec le sérum à haut titre; mais cette agglutination se produisait en granules très fins à peine visibles à l'œil nu. Avec le sérum à bas titre, l'agglutination était *positive* pour une série, et *négative* pour l'autre série de 10 souches.

Donc, comme elle s'est produite chez les souches isolées à Tor, en 1930, nous avons observé un *désaccord* entre les résultats obtenus avec deux sérums différents; mais, dans ce cas-ci, nous connaissons *la cause* de l'irrégularité, parce que nous l'avons *produite expérimentalement*.

La présence du bactériophage dans les cultures de vibrions est donc la cause principale, sinon essentielle, des modifications que subissent les caractères biologiques du vibron cholérique.

Étant donné que le bactériophage intestinal chez les malades, atteints de choléra, se montre souvent d'une grande activité pour le vibron cholérique, il est évident que ce bactériophage (qui est inévitablement ensemencé en même temps que les vibrions sur les milieux de culture qui vont servir à isoler le vibron cholérique), ce bactériophage occasionnera des difficultés insurmontables si l'on ne connaît pas, ou si l'on méconnaît son existence.

Des discussions ardues et interminables, au sujet de l'identité ou des caractères d'un vibron isolé, peuvent en résulter.

Aussi, si l'on prend la peine d'examiner un certain nombre des colonies différentes, repiquées de la même plaque de gélose, on constatera de grandes différences entre lesdites colonies; souvent ces différences sont apparentes immédiatement après l'isolement; mais, parfois, elles ne se manifestent qu'après quelques repiquages. Les discussions qui ont eu lieu au sujet des vibrions isolés à Tor, en 1930, en sont, comme nous l'avons déjà dit, un exemple frappant.

En effet, ces deux souches s'agglutinaient avec le sérum anticholérique employé à Tor jusqu'au titre 1/3.000.

Les mêmes souches envoyées au Caire et essayées avec un sérum titrant 1/1.600 et 1/3.200 ne s'agglutinaient pas.

La conclusion du laboratoire du Caire fut donc que le sérum de Tor laisse à désirer et qu'il contient des coagglutinines non spécifiques qui sont la cause de l'erreur.

En poursuivant les recherches dans notre laboratoire, nous avons constaté que l'agglutinabilité de ces vibrions montrait une variation *discontinue* dans les cultures et nous avons réussi à isoler différents types de colonies dont certains montraient une forte agglutinabilité avec tous les sérums employés, tandis que d'autres ne montraient aucune agglutinabilité avec ces mêmes sérums.

L'appréciation du laboratoire du Caire [7] concernant le sérum du Conseil quarantenaire perd donc son poids, mais la question n'est pas encore liquidée.

Durant l'épidémie de choléra qui a sévi à Bassorah, en 1931, on a isolé 4 souches de vibrions prélevées des premiers cas cliniques constatés : ces quatre souches furent envoyées à notre laboratoire à Alexandrie.

Ces souches étaient agglutinées avec notre sérum, le même sérum employé à Tor en 1930. Deux mois plus tard, ces souches *avaient perdu leur agglutinabilité* et ne s'agglutinaient plus avec notre sérum, pas plus qu'avec d'autres sérums pris comme témoins; l'analyse des colonies isolées nous a démontré que ces souches étaient *contaminées naturellement* par le bactériophage.

Dernièrement, nous avons envoyé un échantillon de notre sérum à Damas, où l'on trouva que la souche n° 3 de Bassorah n'était pas agglutinée par lui. Or, on considère à Damas cette souche, isolée d'un cas clinique de choléra, comme *souche type de vibron cholérique* et on en a conclu que le sérum envoyé d'Alexandrie ne répond pas au but auquel il est destiné.

Aussi, notre sérum est-il critiqué par deux laboratoires différents; mais pour des raisons *diamétralement opposées*: en effet, tandis que le Laboratoire de l'Hygiène publique du Caire déclare que ce sérum agglutine des *souches non authentiques*, le laboratoire de Damas l'accuse de ne pas agglutiner des *souches authentiques*.

La question est toute différente :

La *difficulté ne réside pas dans la qualité du sérum*, mais bien dans les souches cholériques qui montrent des *variations dans*

leurs caractères d'agglutinabilité, variations qui sont dues, comme nous l'avons démontré, à l'influence du bactériophage anticholérique, existant dans les cultures.

Ces variations se produisent aussi bien pour les souches authentiques contaminées artificiellement par le bactériophage que pour les souches *contaminées naturellement* par ce même bactériophage, comme, par exemple, la souche Bassorah n° 3.

Crendiropoulo 5] a dit en ce qui concerne les vibrions isolés par lui de cas cliniques de choléra :

« Nous avons vu des vibrions qui perdaient petit à petit et à
« vue d'œil leur pouvoir d'être agglutinés : nous avons pu
« constater sur le même cadavre la présence de vibrions agglu-
« tinants, exclusivement dans une partie de l'intestin, tandis
« que l'autre ne renfermait que des non agglutinants : nous
« avons trouvé chez des porteurs des vibrions agglutinants,
« aux premiers examens, et des non agglutinants aux autres
« consécutifs, nous avons pu séparer chez le même individu, à
« quelques jours d'intervalle ou en même temps, des vibrions
« hémolysants et non hémolysants, donnant la réaction du
« rouge et ne la donnant pas, déviant et ne déviant pas le
« complément.

« Il est difficile de supposer que tous ces vibrions appar-
« tiennent à des races distinctes, qui existaient côte à côte ou
« se remplaçaient au caprice du hasard (Crendiropoulo). »

En résumant les résultats de nos propres expériences, nous concluons *qu'il est possible (et ceci par l'intermédiaire du bactériophage de d'Hérelle), de transformer in vitro le vibron agglutinable en un vibron non agglutinable, un vibron non hémolytique en un vibron hémolytique, un vibron donnant une réaction d'indol faible en un vibron donnant une réaction d'indol forte : d'isoler, de la même souche, des vibrions agglutinables et non agglutinables, hémolytiques et non hémolytiques.*

Nous avons donc pu reproduire expérimentalement, *in vitro*, dans le laboratoire, les mêmes transformations dans les caractères biologiques du vibron cholérique qu'avait observées Crendiropoulo dans les vibrions cholériques isolés sur le cadavre des cholériques.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] W. DOORENBOS. Rapport sur les vibrions isolés au lazaret de Tor pendant la campagne de 1930. Publ. Rapport de Tor présenté à l'Office international d'Hygiène publique, à Paris, octobre 1930.
- [2] W. DOORENBOS. Les vibrions isolés à Tor pendant le pèlerinage de 1930. La manière dont ils se sont comportés. Rapport sur le pèlerinage de 1931 présenté à l'Office international d'Hygiène publique à Paris, octobre 1931.
- [3] W. DOORENBOS. Le phénomène de l'hémato-agglutination par le vibron cholérique (août 1931). Travail présenté à l'Office international d'Hygiène publique à Paris, dans la session ordinaire d'octobre 1931.
- [4] J. J. V. LOGHEM. *Cf. B. Orig.* Bd. 70, 1913.
- 5 M. CRENDIROPOULO. Divers rapports sur les vibrions publiés par le Conseil sanitaire maritime et quarantenaire d'Egypte, 1911-1912.
- [6] KABESHIMA, voir ROKURO TAKANO. Studies of cholera in Japan. Publ. of the League of Nations III Health, Genève, décembre 1926, III, 22.
- [7] A. T. SHOUSA. La réaction de groupe dans le choléra. Publ. Office international d'Hygiène publique à Paris. *Bulletin mensuel*, juin 1931.

INFECTION ET VACCINATION DES POULES « PER OS » AVEC LA PASTEURELLA DU CHOLÉRA AVIAIRE,

par Ach. URBAIN et P. GORET.

(*Institut Pasteur.*)

C'est Pasteur qui, le premier, en 1880, a vacciné les poules contre le choléra aviaire par une double inoculation d'une culture de pasteurella atténuée à des degrés différents par vieillissement à l'étuve et au contact de l'air. Ce mode de vaccination ayant donné lieu, dans la pratique, à quelques accidents, et l'immunité obtenue par ce procédé, quoique évidente, étant insuffisante pour que la poule résiste à l'inoculation de pasteurella très virulentes, de nombreux auteurs ont cherché d'autres méthodes d'immunisation.

Les plus courantes sont basées sur le procédé préconisé par Pasteur : l'atténuation par la chaleur. Celle-ci est effectuée dans des temps et à une température qui varient selon les expérimentateurs et selon la virulence du germe (procédés de Lignières, Hadley et Amison, Manninger).

D'autres auteurs ont préconisé les cultures tuées par la chaleur et ont obtenu des résultats plus ou moins satisfaisants par ce procédé (Grosso, Haldey, Harvey et Iyengar, Cernaianu). D'autres encore ont utilisé avec un certain succès des cultures atténuées par les antiseptiques (Terni, Sakamoto).

Quelques auteurs emploient les pasteurella provenant d'espèces différentes et non pathogènes pour la poule. C'est ainsi que Kitt, en 1888, vaccine les volailles avec la pasteurella du porc; Jensen, en 1890, avec la pasteurella du bœuf, et Chamberland et Jouan, en 1906, avec celle du lapin. Plus récemment, Staub, en 1925, signale les résultats remarquables obtenus en utilisant comme premier vaccin une culture vivante de pasteurella du lapin et, comme deuxième vaccin, une culture de pasteurella aviaire atténuée par la méthode pasteu-

rienne. Ces vaccins auraient même des propriétés curatives. La valeur de cette méthode vient d'être confirmée par M^{lle} Gordier (1931). Enfin, il faut rappeler que Balozet a décrit un procédé d'immunisation comparable et employé comme premier vaccin une culture virulente de *pasteurella aviaire* additionnée de formol à 2 p. 1.000, et comme deuxième vaccin une culture vivante de *pasteurella bovine* inoffensive pour la poule.

À la suite des travaux de Besredka sur l'immunité locale et particulièrement dans les maladies infectieuses à localisation intestinale, certains savants ont cherché si l'immunisation des poules contre le choléra aviaire était possible à l'aide de la *pasteurella* administrée par la voie digestive. Mais les poules peuvent-elles être infectées par voie buccale à l'aide de la *pasteurella aviaire* virulente? Pasteur reconnaissait qu'il éprouvait de la difficulté à transmettre la maladie par ingestion. Staub infecte une poule en lui faisant absorber 2 à 3 cent. cubes du contenu intestinal d'une poule morte du choléra aviaire, mais il ne peut que rarement infecter un deuxième sujet à l'aide du contenu intestinal de la poule antérieurement infectée par ce procédé. « Le repas infecté (ou soi-disant tel), dit-il, ne vaccine pas l'animal. »

En 1931, Hughes et Ida Pritchett ont constaté que la *pasteurella*, introduite par la voie digestive, était incapable de provoquer l'infection, alors qu'administrée par voie respiratoire la bactérie donnait, dans la majorité des cas, une maladie typique. Cependant, 50 p. 100 des sujets résistaient à cette infection expérimentale.

Malgré la difficulté éprouvée par ces auteurs pour infecter les poules par la voie digestive, quelques expérimentateurs ont tenté de vacciner ces animaux par cette voie. C'est ainsi que Koročiloff et Lourié ont signalé, en 1926, la possibilité de vacciner les poules *per os* contre la *pasteurella aviaire*, par ingestion de doses croissantes de cultures, vieilles de vingt-quatre heures, chauffées deux heures à 60°. Les sujets résistent à l'ingestion virulente tuant les témoins, mais non à l'inoculation du virus dans ou sous la peau.

Wroblewski et S. Swiba, en 1928, ont vacciné aussi avec succès contre la *pasteurella aviaire* des poules et des pigeons en leur faisant ingérer des doses variant de 0,5 à 2 cent. cubes

d'une culture de vingt-quatre heures de *pasteurella* du lapin. Ces auteurs estiment, par ailleurs, que le mode d'infection des poules *per os*, à l'aide de la *pasteurella* aviaire est incertain dans ses résultats; des poules peuvent ingérer des bactéries virulentes et rester bien portantes; mais l'infection réussit si l'on ajoute du verre pilé à la nourriture infectante.

*
*
*

Étant donnée la divergence des résultats obtenus par ces divers auteurs, nous nous sommes proposé de rechercher s'il était possible d'infecter les poules avec la *pasteurella* aviaire par voie digestive et, en ce cas, de leur conférer l'immunité par la même voie. Pour ce faire, nous nous sommes entourés de précautions indispensables pour la réussite de l'expérience. En effet, l'infection se réalise si facilement et si vivement par la voie respiratoire (Trillat, 1931) qu'il importe de ne pas laisser pénétrer dans la trachée la moindre gouttelette de culture et de ne pas provoquer le plus petit nuage susceptible d'être respiré par l'animal.

Nous avons employé une souche de *pasteurella* aviaire due à l'obligeance de M. Staub.

La technique employée pour faire ingérer des cultures aux animaux est la suivante : un aide maintient la poule par les ailes et lui relève la tête en tirant la crête en arrière. Une sonde en caoutchouc enduite de vaseline, d'un diamètre légèrement inférieur à celui de l'œsophage dilaté, et glissant parfaitement contre ses parois, est enfoncée sans difficulté et profondément dans ce conduit par un opérateur qui, d'une main, tire en avant le barbillon. A l'aide d'une seringue dont l'embout s'adapte exactement à la sonde, l'injection est poussée assez rapidement; on injecte ensuite, à plusieurs reprises, de l'eau physiologique stérile. Puis on retire la sonde lentement en la secouant légèrement, tandis que, de son côté, l'aide secoue la tête de l'animal. Au moment où le bout de la sonde, qui a pénétré dans l'œsophage, va apparaître dans le pharynx, celle-ci, alors complètement vide, est retirée très vivement de la bouche maintenue ouverte.

Voici, en détail, quelques-unes de nos expériences :

I. — INFECTION PAR LA VOIE DIGESTIVE.

Le 11 avril, 5 poules reçoivent « *per os* » : poule 1, 0,1 cent. cube d'une culture vivante de *pasteurella aviaire* ; poule 2, 0,5 cent. cube ; poule 3, 1 cent. cube ; poule 4, 2 cent. cubes ; poule 5, 5 cent. cubes de la même culture. Les 5 poules meurent d'infection à *pasteurella*, la poule 3, le 13, les poules 1 et 2 le 14, les poules 4 et 5, le 17 avril. Dans sept expériences semblables, nous avons obtenu des résultats identiques.

Toutefois, dans des essais d'immunisation *per os* à l'aide de *pasteurella* virulente, entrepris antérieurement, nous avons pu constater que quelques rares animaux résistaient d'emblée à l'ingestion de 3, 5 ou 10 cent. cubes d'une culture de *pasteurella aviaire* virulente. L'un de nos sujets avait même résisté, à la suite des ingestions, à l'inoculation intramusculaire de 1 à 2 cent. cubes de culture virulente ; un autre, par contre, après avoir reçu *per os* de grosses quantités de *pasteurella* vivantes, avait succombé à l'inoculation de 0,001 cent. cube de culture virulente. Comme l'origine des volailles utilisées est inconnue, il est vraisemblable d'admettre que celles-ci ont été immunisées, soit par une infection antérieure à *pasteurella aviaire*, soit par une vaccination.

En somme, l'infection expérimentale par voie digestive peut être réalisée sans difficulté.

II. — IMMUNISATION DES POULES « PER OS »

A L'AIDE DE CULTURES ATTÉNUÉES PAR LA CHALEUR.

Le 30 avril, 5 poules reçoivent 10 cent. cubes d'une culture de *pasteurella aviaire* chauffée une heure à 60°. Le 13 mai, elles reçoivent 10 cent. cubes de culture chauffée dix minutes à 60°. Le 28 mai, elles reçoivent (toujours *per os*), 0,1 cent. cube de culture vivante. 2 poules meurent, le 1^{er} et le 3 juin, d'infection à *pasteurella*. Le 5 juin, les survivantes reçoivent, par la bouche, avec deux témoins, 1/4 cent. cube de culture virulente. Les deux témoins meurent le 8 et le 9, une poule d'expérience meurt le 9, d'infection à *pasteurella*. Les deux autres survivent.

III. — IMMUNISATION DES POULES « PER OS »

CONTRE LA PASTEURILLA AVIAIRE

A L'AIDE DE LA PASTEURILLA BOVINE.

4 poules reçoivent, en ingestion, six jours de suite (du 24 au 30 juin) 10 cent. cubes de culture vivante de *pasteurella bovine* non pathogène pour la poule. Le 8 juillet, elles reçoivent, par la même voie, 5 cent. cubes d'une culture de *pasteurella aviaire* chauffée cinq minutes à 60° ; le 20 juillet, 0,1 cent. cube de culture de *pasteurella aviaire* vivante ; le 29 juillet, avec un témoin, 1 cent. cube de culture virulente. Le témoin meurt le 1^{er} août d'infection à *pasteurella*. Une des poules d'expérience meurt accidentelle-

ment le 11 août. Les poules survivantes reçoivent, le 11 août, avec un témoin, 5 cent. cubes de culture virulente par la bouche, le témoin meurt, le 13 août, d'infection à *pasteurella*. Les 3 poules survivantes résistent définitivement.

Dans plusieurs autres expériences, nous avons obtenu des résultats semblables.

Il est donc possible de vacciner les poules par la voie digestive contre la *pasteurella* aviaire, mais l'immunisation ainsi obtenue est *strictement locale*, car les poules ainsi vaccinées ne résistent pas à l'inoculation intramusculaire d'une faible dose de culture virulente de ce germe (0,001 cent. cube).

Le sérum des animaux ainsi immunisés ne contient ni agglutinine, ni précipitrine, mais fixe légèrement l'alexine en présence de *pasteurella* tuée par la chaleur (5 unités d'anticorps).

En résumé, il résulte de nos expériences que l'infection des poules par la voie digestive à l'aide de la *Pasteurella* aviaire est réalisable dans la grande majorité des cas.

Il est possible, d'autre part, de vacciner avec succès les poules, par la voie entérale, contre le choléra aviaire, en utilisant des cultures de *pasteurella* aviaire atténuées par la chaleur ou des cultures vivantes de *pasteurella* bovine, avirulentes pour la poule. Les animaux ainsi vaccinés résistent à une ingestion virulente tuant les témoins, mais succombent à l'inoculation intramusculaire de virus. Cette immunité locale ne semble pas être sous la dépendance des anticorps décelables dans le sang des poules vaccinées par ce procédé.

BIBLIOGRAPHIE

- P. L. BALOZET, *Pasteurella bipolaris*. Notes de Bactériologie. Vaccination contre le choléra aviaire. *Thèse pour le Doctorat vétérinaire*, Paris, 1926.
- A. BESREDKA, *Immunisation locale. Pansements spécifiques*. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1925; *Études sur l'immunité dans les maladies infectieuses*. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1928; *Antivirusthérapie*. Masson et C^{ie}, édit., Paris, 1930.
- C. CERNIANU, Vaccination des poules et des lapins contre le choléra des poules. *C. R. Soc. de Biol.*, **90**, 1924, p. 528; Essais de vaccination préventive par voie cutanée chez les lapins contre le choléra des poules. *C. R. Soc. de Biol.*, **90**, 1924, p. 530.
- Ch. CHAMBERLAND et C. JOUAN, Les *pasteurella*. Ces *Annales*, **20**, 1906, p. 81.
- M^{lle} G. CORDIER, Vaccination contre le choléra aviaire. *C. R. Soc. de Biol.*, **104**, 1931, p. 429.
- P. B. HADLEY et E. AMISON, A biological study of eleven pathogenic micro-organisms from Cholera like Diseases. *R. I. Agr. Stat. Bull.*, **146**, 1911, p. 52.

- HADLEY, Recherches sur l'immunisation contre le choléra des poules. *B. Agric. Sup. Station Rhode Island*, juin 1919.
- I. W. F. HARVEY et K. R. K. IYENGAR, 1° Virulence of Microorganism and its dependance on the culture Medium. *Ind. Journ. of Med. Research*, **9**, avril 1922, p. 723; 2° Virulence of the organism as a factor in the efficacy of prophylactic vaccines. *Ibid.*, p. 730; 3° On the immunizing properties of allied organisms and non specific organisms. *Ibid.*, p. 736.
- THOMAS P. HUGUES et Ida W. PRITCHETT, The Epidemiology of Fowl-cholera. III Portal of Entry of *Pasteurella avicida*; Reaction of the host. *Journ. Exp. Med.*, **51**, février 1930, p. 239.
- C. O. JENSEN. *Monatshefte für Tierheilkunde*, **41**, 1890, p. 1.
- Th. KITT, Geflügelcholera (inkl. : Immunität und Schutzimpfung) Handbuch der Pathog. *Microorg. de Kolle et Wassermann*, **4**, 1930; Beiträge für Kenntnis der Geflügelcholera und deren Schutzimpfung. *Monatshefte für Tierheilkunde*, 20 avril 1905, p. 461; Die Schutzimpfung gegen Geflügelcholera mit artverwandten Kaninchenseptikumbakterien. *Berlin. Tierärz. Wochens.*, **43**, 9 décembre 1927, p. 817.
- KOROCHILOFF et LOURIE, Immunisation *per os* des poules contre le choléra aviaire. *Vestnik sovremeny veterinaryi*, n° 8, 1926, p. 24.
- J. et M. LIGNIÈRES, La vaccination contre les Pasteurelloses (fièvre typhoïde du cheval, maladie des jeunes chiens, choléra des poules, septicémies hémorragiques du mouton, du bœuf, du porc). *C. R. Ac. des Sciences*, **434**, 20 mai 1902, p. 4169.
- R. MANNINGER, Zur Aktiven Immunisierung gegen Geflügelcholera. *Deutsch. Tierärz. Wochens.*, 22 octobre 1921.
- L. PASTEUR, De l'atténuation du virus du choléra des poules. *C. R. Ac. des Sciences*, **91**, 1880, p. 673.
- A. STAUB, Quatre années de vaccination contre le choléra des poules. *Ces Annales*, **39**, décembre 1923, p. 962.
- A. TRILLAT, Expériences d'infection par voie aérienne. Cas du choléra des poules. *C. R. Ac. des Sciences*, **192**, n° 24, 1931, p. 1598.
- W. WRÓBLESWSKI et S. SWIBA, Die Schutzimpfung gegen flügelcholera mit Kaninchenseptikaumbakterien. *Rozprawy Biologiczne*, **6**, fasc. 3-4, 1928, p. 40.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE CHIMIQUE DE LA PÂTE DE GUARANA,

par GABRIEL BERTRAND et P. DE BERREDO CARNEIRO.

Le « Guarana » est une plante originaire des régions équatoriales de l'Amérique du Sud où elle est employée, depuis des temps immémoriaux, en raison de ses propriétés stimulantes et toniques. De Humboldt et Bonpland l'ont fait connaître en Europe, au retour de leur célèbre exploration, et Kunt l'a décrite sous le nom de *Paullinia cupana* H. B. et K. de la famille des Sapindacées. Les indigènes utilisent les racines, les feuilles et les fleurs de guarana à l'état d'infusion ; quant aux graines, ils les broient et façonnent la pâte obtenue en cylindres, en pains, etc., qu'ils font sécher, ce qui assure une longue conservation de la drogue. Au moment du besoin, on râpe un peu de ce produit, devenu très dur, et on absorbe la poudre avec de l'eau. L'usage de la pâte de guarana s'est beaucoup développé et sa fabrication est devenue depuis peu industrielle au Brésil.

La composition chimique de la pâte sèche de guarana, ou simplement « guarana », a été étudiée à plusieurs reprises. Th. Martius en a retiré, le premier, un principe cristallisé en 1826, et lui a donné le nom de guaranine (1). Ce principe a été identifié, en 1840, à la théine ou caféine, par Berthemot et Dechastelus (2) et par Th. Martius lui-même (3).

Plus récemment, en 1890 et en 1892, Schär (4), puis Thoms (5), ont annoncé la présence d'un alcaloïde donnant les réactions colorées de la morphine. Enfin, il y a une vingtaine

(1) *Kastners Archiv für die gesammte Naturkunde*, 7, 1826, p. 266.

(2) *Journ. Pharm.*, 2^e série, 26, 1840, p. 516.

(3) *Büchners Repert. f. d. Pharm.*, 72, 1840, p. 192 et *Ann. d. Chem. Pharm.*, 36, 1840, p. 93.

(4) *Arch. d. Pharm.*, 228, 1890, p. 257.

(5) *Pharm. Central.*, 13, 1892, p. 433.

d'années, tandis que Goris et Flutaux retiraient du guarana une combinaison de tanin et de caféine, Nierenstein (1) affirmait que le principe actif n'était ni de la caféine, ni de la théobromine ou une substance analogue, mais une base nouvelle, de composition $C^{10}H^{17}O^{21}N^1$ et de propriétés tout à fait différentes, qu'il a appelée β -guarinine (2).

Ayant eu l'occasion de disposer de plus d'une dizaine d'échantillons authentiques de pâte indigène et de pâte industrielle, nous les avons examinés avec soin pour savoir s'ils renfermaient ordinairement de la caféine et, au moins parfois, une des substances signalées par Schär, Thoms et Nierenstein.

Tout d'abord, nous avons appliqué à 10 grammes de chacun des échantillons de pâte finement moulue la méthode d'extraction et de dosage de la caféine proposée autrefois par l'un de nous (3). Nous avons constaté ainsi que tous les échantillons renfermaient une forte proportion de caféine. Cette proportion était peu variable d'un échantillon à l'autre. Dans le produit indigène, elle était en moyenne de 48 grammes par kilogramme, à 0,25 p. 100 près. Dans le produit industriel, chargé d'un peu d'amidon, elle était encore de 42 grammes en moyenne, avec des écarts de 0,3 p. 100 au plus.

La substance extraite dans tous ces dosages avait l'aspect cristallisé de la caféine anhydre et fondait, au bloc Maquenne, à 2 ou 3 degrés seulement au-dessous du point de fusion $+ 236^\circ$ de la caféine pure. Il était probable, d'après cela, qu'elle ne renfermait que des traces de substances étrangères. Pour savoir exactement à quoi nous en tenir à ce sujet, nous avons traité un fort échantillon de pâte indigène et nous avons soumis la caféine retirée à un fractionnement systématique.

250 grammes de la pâte réduite en poudre fine (4) ont été épuisés à fond par l'eau bouillante, jusqu'à ce qu'un peu du liquide d'épuisement, additionné d'acide chlorhydrique, ne

(1) *Annals of tropic. Medic. and Parasit.* (Univ. Liverpool), série T. M., 4, 1910, p. 115.

(2) Par suite d'une erreur peu explicable, Nierenstein désignait la guaranine sous le nom de guarinine.

(3) Gab. BERTRAND. *Bull. Sc. Pharm.*, 17, 1910, p. 249.

(4) On broie d'abord la pâte extrêmement dure dans un mortier, puis on passe la poudre grossière dans un moulin à café turc.

donnât plus même de trouble par l'acide silicotungstique (1). Il y avait alors environ 10 litres de liquide. On a déféqué celui-ci par le sous-acétate de plomb, précipité l'excès de plomb par l'acide sulfurique et concentré la solution filtrée incolore, par distillation dans le vide, jusqu'au volume de 600 à 700 cent. cubes. Par agitation dans une ampoule à robinet, à cinq reprises différentes, avec chaque fois 1 litre de chloroforme, on a enlevé toute la caféine. L'addition d'acide silicotungstique à la solution aqueuse fortement concentrée ne donnait pas de précipité, même en présence d'acide chlorhydrique. Toutes les bases organiques extraites par l'eau avaient donc été enlevées par le chloroforme.

En distillant ce dernier, il est resté dans le ballon un produit presque blanc. On l'a dissous dans l'eau bouillante, on a ajouté un peu de charbon de sucre, filtré à chaud et évaporé à sec. Il est resté 11 grammes environ de résidu, séché à $+100^{\circ}$, d'un point de fusion $+232-233^{\circ}$.

Pour le fractionnement, le produit brut a été pulvérisé et agité dans un flacon avec 100 cent. cubes d'eau, à l'aide d'une roue hydraulique, à la température du laboratoire. Après vingt-quatre heures, la solution saturée a été séparée par décantation et filtration, puis évaporée à sec. On a remis 100 cent. cubes d'eau sur la partie indissoute. Après vingt-quatre heures d'agitation, on a séparé la solution saturée qui a fourni une deuxième fraction, et ainsi de suite jusqu'à épuisement du produit brut.

Dès la deuxième fraction et jusqu'à la sixième et dernière, le coefficient de solubilité et le point de fusion ont été constants et identiques à ceux de la caféine pure (coefficient de solubilité, 1 gr. 68 pour 100 cent. cubes d'eau à $+20^{\circ}$; point de fusion, $235-236^{\circ}$) (2).

La première fraction, qui renfermait les diverses impuretés entraînées par le chloroforme, différait très peu de la caféine : coefficient de solubilité, 1 gr. 70 dans 100 cent. cubes d'eau à $+20^{\circ}$, point de fusion $+230^{\circ}$. On l'a redissoute dans l'eau,

(1) Gab. BERTRAND. *Bull. Soc. Chim.*, 3^e série, 25, 1901, p. 379.

(2) Il restait encore une petite quantité de caféine non dissoute (7^e portion) aussi de point de fusion $235-236^{\circ}$, mais insuffisante pour prendre la solubilité.

additionnée d'HCl et d'acide silicotungstique en léger excès. Le précipité a été essoré, lavé à l'eau acidulée et redissous dans l'eau ammoniacale. Par agitation avec du chloroforme, on a obtenu de la caféine ayant le coefficient de solubilité et le point de fusion de la caféine pure.

L'analyse élémentaire, enfin, a donné :

	FRACTION I	FRACTION VI	CALCULÉ
Carbone.	49,50	49,47	49,48
Hydrogène.	5,31	5,40	5,16
Azote	28,80	28,83	28,86

Le produit extrait par la méthode sus-indiquée était donc formé de caféine et, à des traces près d'impuretés non basiques, rien que de caféine.

Nous avons ensuite appliqué la méthode de Stas-Otto, employée par Schär et Thoms.

100 grammes de poudre fine ont été mélangés avec 300 cent. cubes d'alcool à 90° et 1 gr. 5 d'acide tartrique. Après une demi-heure de digestion à 70-75°, on a centrifugé et décanté. Cette extraction a été répétée deux fois. Les liquides alcooliques réunis ont été réduits, par distillation dans le vide, à un petit volume; on a séparé les substances grasses et résineuses à l'aide d'un filtre mouillé et le liquide acide a été agité avec de l'éther. C'est dans le résidu d'évaporation de cet éther que devait se trouver l'alcaloïde analogue à la morphine signalé par Schär et par Thoms. Nous y avons trouvé seulement de la caféine souillée de matières tanniques, qui avaient fait croire à la présence d'une nouvelle base.

Enfin, nous avons repris le travail de Nierenstein en suivant la technique même de l'auteur.

Le guarana finement pulvérisé a été extrait avec de l'alcool contenant 1 p. 100 d'acide chlorhydrique à une température de 50 à 60° sur le bain-marie. Nous avons opéré sur des échantillons de 20 grammes et traité trois fois par 50 cent. cubes d'alcool. Les extraits refroidis, d'une belle couleur rouge foncé, ont été réunis et neutralisés par une quantité calculée d'ammoniaque. Il s'est déposé un précipité brun rouge que l'on a séparé par centrifugation et traité par l'alcool bouillant. On a ajouté un peu de charbon de sucre, on a fait bouillir un quart

d'heure, puis filtré et évaporé au tiers du volume primitif. Il s'est déposé des cristaux en aiguilles, comme il est indiqué par Nierenstein. Ces cristaux étaient jaunâtres, amers, solubles dans l'eau et précipitables par les réactifs généraux des alcaloïdes. Ils se sublimaient avant de fondre, déjà très nettement vers 180°. Leur point de fusion instantané au bloc Maquenne était à 222°-223°.

Nierenstein avait obtenu dans ces conditions des aiguilles fondant à 217-219° et donnant lieu à une légère décomposition dès la température de 167-169°. Sans les purifier davantage, ni en donner d'autres caractéristiques, il les avait séchées et analysées. Il y avait trouvé seulement, ce qui est peu vraisemblable, 9,14 p. 100 d'azote au lieu de 28,86 contenus dans la caféine.

Nous avons soumis notre produit à plusieurs essais de purification, soit par sublimation, soit par cristallisation dans l'eau et dans l'alcool, soit par précipitation à l'état de silicotungstate, régénération par l'ammoniaque et extraction à l'aide d'un solvant organique. Nous sommes arrivés par ces trois méthodes à une même substance cristallisée, blanche, fondant à + 235-236°, ayant toutes les propriétés de la caféine. Le moins qu'on puisse dire pour expliquer les résultats de Nierenstein est qu'il a travaillé avec une substance très impure.

En résumé, la pâte séchée d'amande de guarana renferme régulièrement de la caféine : en moyenne, 4,8 p. 100 lorsqu'elle est préparée par les indigènes, et 4,2 p. 100 lorsqu'elle est de fabrication industrielle. Dans un cas comme dans l'autre, les oscillations sont très faibles.

Il n'y a pas d'alcaloïde analogue à la morphine. Schär et Thoms ont été induits en erreur par des réactions phénoliques provenant des tanins du guarana. Quant à la β -guarinine, que Nierenstein avait cru découvrir et à laquelle il attribuait la formule $C^{10}H^{47}O^{21}N^4$, elle résulte d'une expérimentation imparfaite et doit être considérée comme inexistante.

LA LUTTE CONTRE LA MALADIE DU SOMMEIL AU CAMEROUN,

par E. JAMOT.

La situation au début de 1924.

En décembre 1924, nous avons publié, dans ces *Annales*, une étude se rapportant à la maladie du sommeil au Cameroun, dans les régions du Haut Nyong et de la Doumé. Ce travail montrait que, à cette époque, la maladie était solidement implantée, depuis de longues années, dans les bassins de ces deux cours d'eau et qu'elle y sévissait avec une grande violence, notamment dans les populations riveraines du Nyong.

« Le cours du Nyong — écrivions-nous — est l'axe d'un foyer épidémique extrêmement violent. Dans les agglomérations situées au voisinage du fleuve, entre Abong-Mbang et Kolmaka, la maladie existe presque partout à l'état épidémique et dans 46 villages dont la population totale est de 20.351 habitants nous avons recensé 14.374 trypanosomés sur 17.797 personnes visitées. Dans 59 groupements de cette région, les taux d'infection atteignent ou dépassent 40 p. 100; dans 36, ils sont supérieurs à 60 p. 100 et dans 11 ils varient de 80 à 97 p. 100. »

Dans l'ensemble des subdivisions administratives d'Akonolinga, d'Abong-Mbang et de Doumé, qui comprenaient une population totale de 125.535 habitants, nous en avons visité 112.945, dont 33.537, soit 29,7 p. 100, avaient été reconnus contaminés. La visite méthodique de tous les villages nous avait en outre appris que, dans les groupements frontières des subdivisions précitées, les taux d'infection étaient presque partout très élevés et qu'en conséquence la maladie avait largement envahi les territoires voisins. D'autre part, nous avons observé qu'elle augmentait d'intensité au

nord, au nord-ouest et à l'est de Doumé et qu'elle progressait activement sur les rives du Nyong et à l'Ouest d'Akonolinga, dans la direction de Yaoundé.

Parmi les 33.143 trypanosomés que nous avons recensés et soignés dans les subdivisions d'Akonolinga, d'Abong-Mbang et de Doumé, de juin 1920 au début d'avril 1924, nous avons enregistré 7.480 décès, soit 22,5 p. 100. Dans la seule subdivision d'Akonolinga, pour la période d'août 1922 à septembre 1923, nous en avons compté 3.096 sur 20.290 malades, soit 15,2 p. 100, et dans celle d'Abong-Mbang, 736 pour 6.174 malades, de février 1923 à mars 1924. Le taux moyen de la mortalité annuelle des trypanosomés soignés plus ou moins régulièrement à l'atoxyl, seul médicament utilisé à cette époque en prophylaxie, était alors de 14 p. 100.

Enfin, nous notions que, dans l'ensemble des régions visitées, la maladie du sommeil tuait à elle seule à peu près autant de monde que toutes les autres maladies réunies et que la mortalité générale était deux fois plus élevée que la natalité. Dans la subdivision d'Akonolinga, qui était alors la plus éprouvée du territoire, et où, sur 44.540 habitants visités, nous avons trouvé 21.780 trypanosomés, soit 49 p. 100, le nombre total des décès s'élevait, pour une année, à 4.969 (10,3 p. 100) dont 3.096 imputables à la maladie du sommeil. Le nombre total des naissances, pendant le même temps, était de 1.481, soit de 3,5 p. 100, d'où un déficit annuel de 7 unités pour 100 habitants.

Les Pouvoirs publics comprirent que, pour remédier à une situation aussi grave, il nous fallait des moyens beaucoup plus puissants que ceux dont nous disposions et un arrêté ministériel de juillet 1926 créa, au Cameroun, une Mission de prophylaxie qui comprenait 11 médecins, 20 agents sanitaires européens et 150 infirmiers indigènes.

La situation en novembre 1928.

LES LIMITES DE LA MALADIE.

Cette mission se donna pour premier but de déterminer, aussi exactement que possible, l'étendue et la gravité de

l'endémo-épidémie. Elle y consacra deux années de travail ininterrompu et, fin 1928, elle pouvait établir le bilan et la situation et dresser une carte à peu près complète de la maladie du sommeil au Cameroun.

Dans le *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* de juin 1929, nous avons longuement décrit la zone contaminée. Pour la clarté de cette étude, nous rappellerons ici que son berceau est vraisemblablement dans le bassin du Haut-Nyong.

Les rives du Nyong et celles de ses nombreux affluents sont très marécageuses et infestées de tsés-tsés. La maladie s'est trouvée là dans des conditions extrêmement favorables à son évolution et, de proche en proche, elle a gagné toutes les régions voisines. A l'Ouest, elle a débordé Yaoundé, chef-lieu du territoire, et s'est diffusée jusqu'à la frontière de la subdivision d'Eséka qu'elle a d'ailleurs respectée. Au nord, elle a atteint les rives de la Sanaga qu'elle a franchie en un point, au voisinage de Bafia. Au sud, elle s'est propagée dans le bassin du Dja, cours supérieur de la Ngoko et est arrivée, en décroissant d'intensité, jusqu'à la frontière du Gabon. Au sud-ouest, elle a lancé une pointe menaçante dans la direction d'Ebolowa. Enfin, à l'est, elle s'est propagée dans le bassin de la Doumé et de la Kadéï, jusqu'au confluent de ces deux rivières, mais les villages qui sont situés à l'est de ce confluent et à proximité du Moyen Congo et de la Haute Sangha étaient et sont encore à peu près indemnes.

Dans cette vaste région, la maladie a fait tache d'huile, mais elle n'est pas répandue uniformément partout et son intensité décroît au fur et à mesure qu'on s'éloigne du foyer primitif qui est sur les rives du Nyong, et des foyers secondaires qui ont évolué pour leur propre compte, l'un dans la région de Deng-Deng et de Bertoua, un autre dans le bassin de la Doumé et de la Kadéï, enfin un troisième dans la région de Bafia.

Pour la commodité de la description, nous avons divisé la région infectée en zones épidémiques où les indices de morbidité sont partout supérieurs à 15 p. 100, en zones endémo-épidémiques où ils sont tantôt supérieurs et tantôt inférieurs à 15 p. 100, enfin en zones endémiques où ils sont inférieurs à 15 p. 100.

ZONES ÉPIDÉMIQUES.

Une première zone épidémique d'une rare violence s'éten-



FIG. 1.

dait de Yaoundé jusqu'à Lomié. Sa population est d'environ 160.000 habitants. Fin 1928, 144.349 y avaient été visités et, parmi eux, 66.584, soit 46 p. 100, avaient été reconnus trypan-

nosomés. Certains points étaient particulièrement éprouvés et c'est ainsi que la subdivision d'Abong-Mbang, qui comptait 20.409 habitants, avait 12.983 malades, soit les $\frac{2}{3}$ environ de sa population. Dans les tribus Djem et Bikelé de cette subdivision, les taux moyens d'infection étaient respectivement de 75 et 77 p. 100, et ces deux tribus, qui avaient ensemble une population de 11.675 habitants en 1923, n'en avaient plus que 7.003 fin 1928, soit un déchet de 40 p. 100 en moins de cinq ans.

Deux autres foyers épidémiques, moins violents que le précédent, sévissaient l'un dans la région de Bertoua et de Deng-Deng, l'autre dans celle de Batouri.

Dans l'ensemble de ces trois foyers, la population totale recensée fin 1928 était de 211.148 habitants. Parmi eux, 194.889 avaient été examinés et 82.583, soit 43,2 p. 100, reconnus trypanosomés.

ZONES ENDÉMO-ÉPIDÉMIQUES.

Dans les zones endémo-épidémiques, qui séparent ou entourent les foyers épidémiques, 160.506 habitants avaient été visités et 23.319 malades, soit 14,5 p. 100, avaient été dépistés.

ZONES ENDÉMIQUES ET ZONES DE TRANSITION ENTRE LES RÉGIONS CONTAMINÉES ET INDEMNES.

Dans les zones endémiques, qui bordent les foyers épidémiques et endémo-épidémiques, et dans les zones de transition entre les régions contaminées et indemnes, 6.893 trypanosomés avaient été trouvés sur 287.257 habitants visités, soit en moyenne 2,4 p. 100. Nous comprenons dans ces chiffres 2.086 malades qui furent rencontrés dans les villages situés à la périphérie des zones d'endémie, à l'extrême limite des courants de contagion, dans une population de 213.541 habitants dont l'indice d'infection était donc inférieur à 1 p. 100.

En résumé, sur 752.520 habitants recensés dans les régions contaminées du Cameroun, y compris le foyer du Logone et du Chari, 663.971 avaient été examinés et 115.354 reconnus trypanosomés, soit en moyenne 17,4 p. 100.

Nous avons, en outre, constaté que, dans la plupart des villages déjà visités en zone épidémique, la maladie était en progression.

Et ainsi se trouva réalisée la première partie du programme de la Mission de prophylaxie : la reconnaissance approfondie de l'ennemi.

La lutte dans les foyers.

Désormais, la mission va se proposer de maîtriser les foyers et d'empêcher leur extension.

A vrai dire, les équipes de recherches ne s'étaient pas bornées à découvrir le mal et à le mettre à nu ; elles l'avaient partout énergiquement combattu et déjà, au début de 1929, nous pouvions constater, en de très nombreux points, le recul du fléau. Mais la tâche est immense et les moyens, pourtant puissants, dont dispose la mission, sont de nouveau insuffisants. Le territoire s'est imposé d'énormes sacrifices pour faire face à nos besoins, mais son budget est limité et nous devons faire appel à la métropole qui, en 1930, nous accorde généreusement une subvention de 3 millions. Il nous est ainsi possible d'augmenter notre personnel qui est porté à 18 médecins, 36 agents sanitaires européens et environ 400 auxiliaires indigènes.

Les règles de la prophylaxie médicale au Cameroun.

Nous rappellerons ici les notions fondamentales qui guident, depuis quinze ans, notre action prophylactique et que nous formulions déjà, en mai 1920, dans le *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* (t. XIII, n° 5).

Le malade étant pratiquement le seul réservoir du *Trypanosoma gambiense*, la destruction du parasite dans l'organisme infecté, qui réalise, lorsqu'elle est parfaite, la guérison du malade, est le but que doit poursuivre le médecin. « C'est dire — écrivions-nous, p. 343 — que la prophylaxie médicale de la maladie du sommeil est étroitement liée à son traitement et que l'effet protecteur de notre intervention est naturellement

subordonné à l'efficacité de la cure employée... Pour blanchir les malades et pour les guérir nous disposons d'agents thérapeutiques très actifs dont les trois principaux sont : l'atoxyl, le néo-arsénobenzol et l'émétique. On sait que lorsque le parasite évolue dans l'organisme il se multiplie d'abord exclusivement dans les organes lymphatiques et dans le sang. C'est la *première période* de la maladie... Au bout d'un temps variable, parfois assez long, le parasite franchit la barrière qui sépare le système circulatoire des espaces sous-arachnoïdiens et s'installe dans le liquide céphalo-rachidien. Cette étape marque le début de la *seconde période* de la maladie.

« Le parasite du sang et de la lymphe est extrêmement vulnérable. C'est dire que les malades, à la première période, peuvent être guéris et même, croyons-nous, facilement guéris. Il en est tout autrement des malades à la seconde période. Leur guérison est tout à fait exceptionnelle et, dans l'état actuel de nos connaissances — nous étions en 1920 — nous devons les considérer comme incurables. »

Plus loin, nous ajoutons : « La prophylaxie médicale vise essentiellement à détruire, par des moyens chimiques, le virus en circulation dans le sang des malades. Pour réaliser son but, elle doit rechercher les malades, les soigner et, *si possible*, les guérir. »

Pages 371 et 372, nous proposons de soigner les malades en « associant judicieusement les médicaments les plus actifs : atoxyl, émétique et novarsénobenzol ».

Nous recommandions, tout spécialement, l'association atoxyl-novarsénobenzol qui nous avait paru particulièrement active et capable de « stériliser, en quelques semaines, l'organisme des malades de la première période, pour un temps extrêmement long, sinon définitivement ».

Et c'est en nous appuyant sur de nombreuses guérisons que nous avions ainsi obtenues très rapidement, que nous écrivions, page 373 :

« La méthode de la cure prophylactique par médicaments associés est la seule qui permette d'envisager l'issue de la lutte engagée. Les malades de la première période évoluant normalement, lorsqu'ils ne sont pas traités ou lorsqu'ils le sont insuffisamment, vers la deuxième période, c'est-à-dire d'un état

où ils sont curables vers un autre où ils ne le sont plus, leur guérison doit avoir pour conséquence logique, d'abord la diminution du nombre des incurables, puis finalement la disparition de la maladie. »

Depuis cette époque, le Bayer 205 (Fourneau 309 ou moranyl),



FIG. 2. — Transport d'un malade.

la tryparsamide et le 270 Fourneau ou orsanine, sont venus renforcer notre arsenal thérapeutique.

Le moranyl nous a permis de détruire les parasites qui résistaient à tous les autres médicaments.

L'orsanine, que nous n'utilisons au Cameroun que depuis l'année dernière, s'est révélé à Brazzaville beaucoup plus actif que l'atoxyl.

Quant à la tryparsamide, que les beaux travaux de Miss Louise Pearce, puis ceux de Van den Branden et de Van Hoof, nous ont fait connaître, et dont nous avons prophétisé nous-

même en 1924, la brillante destinée, elle a fait, en 1926, une entrée triomphale dans notre thérapeutique⁽¹⁾. C'est que ce produit, de l'Institut Rockefeller, a apporté le salut à un grand nombre de malades des périodes avancées qui étaient auparavant considérés comme perdus.

Cependant, jusqu'au milieu de 1927, la tryparsamide ne fut



FIG. 3. — Malade cachectique (dernière période).

employée que pour les grands malades traités dans les hypno-series et l'atoxyl fut à peu près notre seul arme prophylactique. Nous nous appliquions à répéter les injections d'atoxyl le plus souvent possible et nous verrons que nous avons ainsi réussi à maîtriser la maladie, au moins momentanément, dans un grand nombre de foyers.

(1) V. le *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* du 8 octobre 1924, p. 692, et ces *Annales*, t. XXXVIII, décembre 1924.

Mais l'atoxyl, qui détruit rapidement, et pour un temps parfois assez long, les trypanosomes de la lymphe et du sang, est sans effet durable sur les parasites du névraxe et incapable, pour cette raison, d'éteindre complètement l'endémo-épidémie. Il éteint bien l'incendie, mais superficiellement, et il laisse toujours couver sous la cendre des braises redoutables qui, tôt ou tard, rallument le feu. Nous l'avions déjà constaté dans l'Oubanghi-Chari en 1919 (1). En juin 1927, nous nous trouvâmes au Cameroun, dans la subdivision d'Abong-Mbang, en face de populations extrêmement contaminées, chez lesquelles l'atoxyl avait épuisé son action et qui étaient en train de fondre.

Nous prescrivîmes à chaque malade 10 injections de tryparsamide et la mortalité fut arrêtée comme par enchantement.

Depuis, nous avons généralisé ce traitement. Tous nos malades, qui avaient été soignés à l'atoxyl, ont reçu une ou plusieurs séries de 10 ou 12 injections de tryparsamide.

Actuellement, nous faisons aux nouveaux malades un traitement polyvalent dans lequel nous associons l'atoxyl, le novarsénobenzol et la tryparsamide. Ce traitement se propose de stériliser, aussi parfaitement que possible, la circulation générale, de guérir tous les malades à la première période et d'amorcer la guérison des malades plus avancés.

Tous les anciens trypanosomés sont soignés à la tryparsamide, à laquelle nous associons — quand ils ont des parasites dans le sang — le moranyl ou l'émétique d'aniline.

Les grands sommeilleux, cachectiques, bouffis et impotents, sont hospitalisés dans les hypnoseries où ils reçoivent des soins appropriés à leur état.

L'évolution de la thérapeutique prophylactique en Afrique équatoriale française.

Pendant longtemps, le système prophylactique de l'A. E. F. s'est proposé de blanchir les malades en leur injectant tous les six mois, et à huit jours d'intervalle, deux doses massives

(1) V. le *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* du 12 mai 1920, p. 369 et 370.

d'atoxyl. En 1924, Blanchard et Laigret dénoncèrent l'inefficacité de la méthode et ils préconisèrent à la place un traitement prophylactique de 6 injections rapprochées d'atoxyl. Ce fut un très grand progrès.

En 1927, Ledentu fit adopter par le Service de Santé de l'A. E. F. le système de la cure prophylactique par l'atoxyl et la tryparsamide (1).

L'atoxyl, qui n'a pas d'effet durable sur les trypanosomés à la

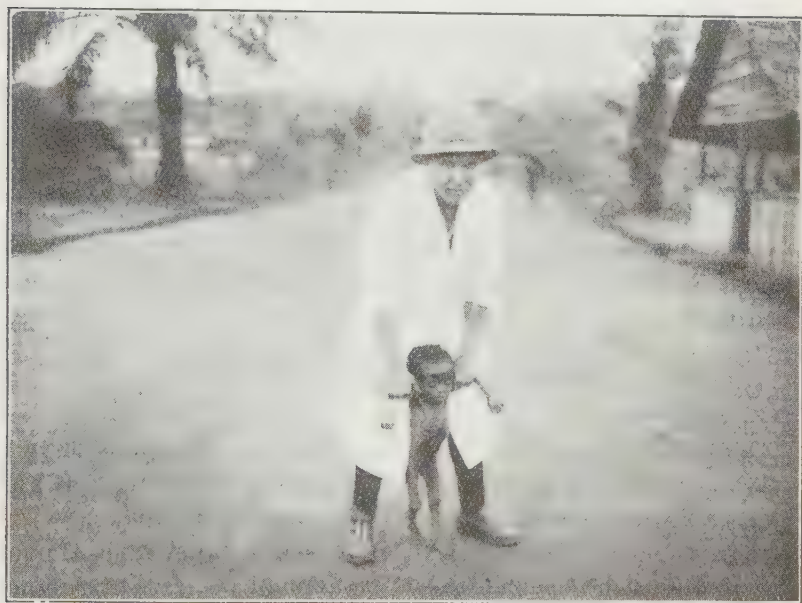


FIG. 4. — Enfant trypanosé cachectique.

deuxième et à la troisième période, et auquel on reproche, à tort d'après nous, d'exposer les malades avancés à des troubles oculaires et à une aggravation des symptômes nerveux, est réservé aux trypanosomés de la première période. Les malades des deuxième et troisième périodes sont soignés à la tryparsamide. Ce traitement implique naturellement l'examen du liquide céphalo-rachidien. L'action thérapeutique est contrôlée

(1) V. les *Annales de Médecine et de Pharmacie coloniales*, n° 1 de 1928.

au cours et à la fin du traitement par de nouvelles ponctions lombaires.

Muraz, qui est inspecteur du service de prophylaxie en A. E. F., nous a appris aux « Journées médicales coloniales » que des instructions récentes venaient de remplacer l'atoxyl par l'orsanine dans la thérapeutique prophylactique.

Le traitement comprend, pour chaque malade, une cure standard annuelle de 10 à 12 injections qui sont faites dans des centres de traitement où les malades sont hospitalisés et soignés sous la surveillance du médecin.

Sicé, qui a dirigé avec éclat l'Institut Pasteur de Brazzaville pendant ces deux dernières années, demande avec insistance que ce traitement soit poursuivi jusqu'à la guérison complète des malades. Mais les communications de Muraz à la Société de Pathologie exotique (voir au Bulletin les numéros 3, 7 et 9 de 1930) et aux « Journées médicales coloniales » semblent indiquer qu'il est actuellement impossible d'envisager sous cet angle la prophylaxie médicale en Afrique équatoriale française.

Discussion des deux méthodes.

En A. E. F., le dépistage des malades est fait dans les villages par des auxiliaires du service de prophylaxie : hygiénistes, agents sanitaires européens et infirmiers indigènes.

Les malades sont ensuite hospitalisés, comme nous venons de le dire, dans des centres de traitement où ils sont soignés par le médecin, après ponction lombaire.

Au Cameroun, le dépistage des malades est fait par le médecin.

Les malades ne sont pas hospitalisés, mais soignés à domicile par des équipes d'infirmiers noirs, dirigées par des agents sanitaires européens, qui appliquent le traitement prescrit par le médecin.

Les prescriptions sont faites sans examen préalable du liquide rachidien.

Au Cameroun, comme en A. E. F., il est impossible de poursuivre dans des conditions actuelles la guérison intégrale des trypanosomés et la cure standard y est, comme chez nos voisins, une nécessité. Mais nous avons vu que notre traite-

ment prophylactique diffère sensiblement de celui de l'A. E. F.

Les deux méthodes sont donc bien différentes et, comme elles se sont affrontées aux « Journées médicales coloniales », nous ne croyons pas inutile d'en examiner en détail chaque point particulier.

LE DÉPISTAGE DES MALADES.

Au Cameroun, nous pensons que l'efficacité des opérations prophylactiques est rigoureusement subordonnée au soin avec lequel on recherche les malades. Une tournée de prospection, qui laisse derrière elle des malades ignorés, laisse des germes de contagion qui annihilent ses efforts et compromettent le succès. Le dépistage des trypanosomés est donc pour nous l'acte fondamental, tout à fait essentiel, de la prophylaxie. Or, l'expérience nous a appris que les auxiliaires blancs et noirs du service de prophylaxie n'ont ni la compétence ni l'autorité indispensables pour mener cette tâche à bien.

Nous avons cité l'exemple d'une équipe d'infirmiers noirs, parfaitement entraînée, qui fut envoyée par Jojot dans un groupe de villages très contaminés de la subdivision d'Akonolinga. Dans leur ensemble, ces villages comptaient environ 49.000 habitants. L'équipe ne put en voir que 7.500 parmi lesquels elle trouva 2.587 trypanosomés. Quelques mois plus tard, nous visitâmes nous-mêmes ces villages et nous y découvrîmes, parmi les gens non examinés la première fois, 5.700 nouveaux malades.

En 1923, notre regretté camarade et ami, Corson, qui dirigeait le secteur de Doumé, eut les mêmes déboires avec une forte équipe d'infirmiers noirs, dirigés par un sous-officier européen du Poste. Sur une population de 30.000 habitants à visiter, l'équipe ne réussit à en voir que 10.845, soit un peu plus du tiers, parmi lesquels elle trouva 2.030 malades. Cette prospection ne put être refaite que plusieurs années plus tard et on peut calculer qu'environ 4.000 trypanosomés furent ainsi laissés sans soins.

Il est bien évident que des opérations ainsi conduites n'ont eu et ne pouvaient avoir aucun effet prophylactique.

La prospection des villages doit être faite sur la base des

recensements nominatifs établis par l'autorité locale. Le rassemblement et la visite des habitants exige obligatoirement la collaboration intime du chef de la subdivision et du médecin, et rien de sérieux ne peut être entrepris au point de vue prophylactique sans cette collaboration. L'administrateur mobilise toutes les forces dont il dispose pour aider le médecin qu'il accompagne dans sa tournée. Nous en avons connu un qui, ne pouvant se déplacer, déléguait ses pouvoirs au médecin dont il



FIG. 5. — Examen en série (palpation ganglionnaire).

se borna ensuite à entériner les décisions. Nous croyons qu'il serait excessif de demander aux administrateurs de participer personnellement aux opérations des équipes dirigées par des infirmiers qui, livrés à eux-mêmes, sont — nous le répétons — absolument incapables de s'acquitter correctement de cette tâche.

C'est pour cette raison qu'au Cameroun les équipes de recherches sont toujours dirigées par un médecin.

Si le Cameroun et l'A. E. F. disposaient d'un personnel médical très nombreux, il serait possible en A. E. F. de faire

dépister les malades par les médecins comme nous le faisons au Cameroun et, ici, nous pourrions faire soigner les malades directement par les médecins, comme on le fait en A. E. F. Mais, de part et d'autre, il a fallu choisir et mettre les médecins à la place où ils semblaient devoir rendre le maximum de services.

Au Cameroun, nous l'avons dit, ils dépistent les malades et

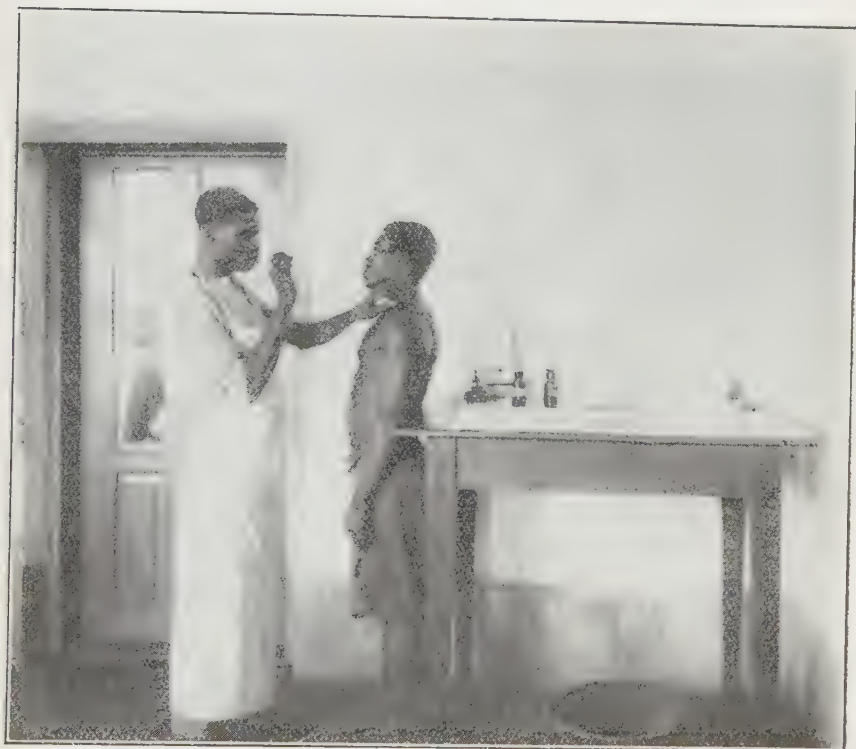


FIG. 6. — Ponction ganglionnaire.

prescrivent le traitement qui est appliqué, sous leur surveillance, par des agents sanitaires, assistés d'infirmiers noirs.

En A. E. F., ils soignent les malades qui sont dépistés par les agents sanitaires.

L'avenir nous apprendra quelle est celle de ces deux méthodes qui donne les meilleurs résultats.

LE TRAITEMENT ET LA QUESTION DE LA PONCTION LOMBAIRE.

Nous avons vu que, dans les secteurs de l'A. E. F., les malades sont hospitalisés dans des centres de traitement où on leur fait, avant toute prescription, un examen céphalo-rachidien. Si le liquide est net, on les soigne à l'atoxyl ou à l'orsanine; s'il est altéré, on leur fait de la tryparsamide.

Les résultats de ce traitement n'ont pas encore été publiés,



FIG. 7. — Traitement d'un malade.

mais en se basant sur l'action trypanocide et curative des remèdes employés il est possible, *a priori*, de s'en faire une idée.

Les observations suivies à l'Institut Pasteur de Brazzaville depuis 1924 montrent qu'au stade de l'invasion sanguine et lymphatique, c'est-à-dire à la première période de la maladie, le pourcentage des rechutes sanguines, après un premier trai-

tement, est de 3,7 avec l'orsanine, de 15,9 avec l'atoxyl et de 19,6 avec la tryparsamide.

Aux périodes plus avancées, on observe avec l'orsanine 3,5 p. 100 de rechutes sanguines et, après un traitement prolongé à la tryparsamide, 4,6 p. 100.

Enfin, chez les malades à la première période, traités par l'un ou l'autre de ces trois médicaments, on a constaté 2,8 p. 100 d'évolutions nerveuses après l'orsanine, 3,9 p. 100 après la tryparsamide et 25 p. 100 après l'atoxyl.

Ces renseignements confirment, pour ce qui concerne l'atoxyl, les observations de Broden et Rodhain qui ont obtenu, au Congo belge, 73 p. 100 de succès avec l'atoxyl chez les malades à la première période.

Il résulte de ces chiffres que l'atoxyl guérit au maximum 75 p. 100 de trypanosomés à liquide lombaire indemne et que 16 p. 100 des malades ainsi traités font des rechutes sanguines.

La substitution de l'orsanine à l'atoxyl, pour cette catégorie de malades, doit améliorer la situation en augmentant considérablement les pourcentages des stérilisations et des guérisons, mais les statistiques de Sicé montrent que ce médicament, qui est le plus spécifique de tous nos remèdes à la période d'invasion sanguine, laisse pourtant subsister un certain nombre de malades parasités.

Par ailleurs, les trypanosomés des périodes avancées, qui sont soignés exclusivement à la tryparsamide, font eux aussi des rechutes sanguines dans la proportion de 19,6 p. 100. On peut, comme l'a montré Sicé, réduire ce dernier chiffre en prolongeant le traitement, mais nous savons par Muraz que ce n'est pas possible, les malades ne pouvant être gardés dans les centres de traitement que pendant un temps limité.

Il ne semble donc pas que la thérapeutique monovalente qui est appliquée en A. E. F., aux deux grandes catégories de trypanosomés, qui sont discriminées par la ponction lombaire, puisse réaliser la stérilisation complète des malades qui est le but idéal de la prophylaxie.

Nous comprenons ainsi les protestations de Sicé contre les cures-standards de Muraz et son insistance opiniâtre à demander que les malades soient maintenus dans les centres de traitement pour y être soignés jusqu'à la guérison.

Au Cameroun, nous n'avons pas davantage les moyens d'assurer la cure intégrale des trypanosomés et, en raison de leur grand nombre et de la violence de l'épidémie, nous avons dû modifier notre première formule — celle de 1920 — et faire passer la guérison des malades après la destruction du virus en circulation.

Nos prescriptions sont faites, comme nous l'avons dit, sans examen préalable du liquide rachidien et ceci nous a valu un certain nombre de critiques que nous allons examiner.

Muraz trouve que notre méthode est « simplifiée à l'excès », et c'est un beau compliment dont nous le remercions.

Ledentu, Sicé et Vaucel estiment qu'il n'est pas possible de traiter correctement un trypanosomé si on ne connaît pas sa réaction méningée. Rodhain et Marcel Leger sont du même avis. Nous n'avons jamais, pour notre part, exprimé d'opinion différente, en ce qui concerne les malades qui sont soignés dans un hôpital ou qui peuvent être suivis.

Mais le traitement prophylactique dont nous nous occupons ici, à l'exclusion du traitement hospitalier, place la question thérapeutique sur un tout autre plan.

Dans un hôpital, il y a des malades qu'on surveille attentivement, qu'on soigne de son mieux, pendant tout le temps nécessaire et qu'on guérit si on le peut.

Dans un foyer de maladie du sommeil, et en particulier dans un foyer épidémique, il y a surtout une masse de virus qui menace à la fois les malades et les bien portants et qu'il importe de détruire dans le minimum de temps.

Nous pensons qu'il est possible d'attaquer ce réservoir de virus et de le combattre efficacement sans faire de ponction lombaire.

Nous savons qu'il n'existe pas de médicament absolument spécifique pour chacune des périodes de la maladie. L'atoxyl et l'orsanine, qui ont une action stérilisante puissante, ne stérilisent ni ne guérissent tous les malades du premier degré. La tryparsamide qui guérit la moitié des malades des périodes avancées en expose un grand nombre aux rechutes sanguines.

Les traitements monovalents standardisés ne donnent donc, en fin de compte, aucune sécurité, ni au point de vue prophylactique, ni au point de vue curatif.

Or, c'est là qu'est le nœud de la question de la ponction lombaire, *en prophylaxie*. Si, en effet, on admet, comme nous le soutenons depuis plus de dix ans, que, pour donner aux malades toutes leurs chances de stérilisation et de guérison, il faut nécessairement les soumettre à un traitement polyvalent, qui associe *dans tous les cas* les remèdes les plus actifs, hier l'atoxyl, le novarsénobenzol et l'émétique, aujourd'hui l'atoxyl, le novarsénobenzol, l'orsanine et la tryparsamide, la discrimination des trypanosomés en deux catégories ne paraît plus indispensable et la ponction lombaire perd de son intérêt.

Mais nous voyons surgir une autre objection.

L'atoxyl serait dangereux pour les malades des deuxième et troisième périodes qu'il exposerait à des accidents oculaires et à une aggravation des troubles nerveux. Pour cette raison, il doit être réservé aux malades du premier degré et nous avons vu que cette règle est appliquée en A. E. F. Si cette observation était fondée, elle justifierait à elle seule la rachicentèse, mais nous ne la croyons pas très solidement établie. Nous voulons bien admettre, avec Rodhain, Blanchard, Laigret et Sicé, que le nerf optique des trypanosomés avancés est plus sensible à l'atoxyl que celui des malades au début, mais ceci est également vrai pour la tryparsamide, peut-être même pour l'orsanine, et il n'y a pas, dans ce fait, de contre-indication formelle à l'emploi du médicament dans les formes avancées.

De 1917 à 1920, nous avons soigné, dans l'Oubangui, 5.500 malades de toutes catégories avec de l'atoxyl. Nous n'avons pas gardé le souvenir d'avoir occasionné parmi eux des accidents oculaires et Boyer de Choisy, qui a revu ces malades après notre départ, a fait la même constatation.

Au Cameroun, 128.984 malades ont été depuis dix ans soignés à l'atoxyl, dans les mêmes conditions : le nombre des accidents oculaires consécutifs à ce traitement est pratiquement insignifiant, et nous n'avons pas constaté davantage d'aggravations nerveuses.

Nous ne redoutons donc pas, chez les malades avancés, les méfaits de l'atoxyl et nous sommes persuadé que les accidents de rétinite proviennent toujours de fautes thérapeutiques qu'il est possible d'éviter, en suivant avec nous les règles posologiques qui ont été fixées en 1908 par la Mission Martin, Lebœuf et Roubaud.

Nous avons rappelé ces règles en décembre 1924, dans le tome XXXVIII de ces Annales. Nous n'y reviendrons pas, mais nous allons en résumer les points essentiels en quelques lignes.

Les prescriptions sont faites en tenant compte de l'âge, du poids et de l'état du malade. La première dose doit être aussi élevée que possible pour éviter les accidents d'atoxyl-résistance. Chez les malades en bon état, on peut faire sans inconvénient 1 centigr. 1/2 et chez les enfants 2 centigrammes d'atoxyl par kilogramme de poids. Il ne faut pas dépasser le plafond de 1 gramme. Chez les malades en mauvais état et chez les gens âgés, on doit diminuer les doses jusqu'à 1 centigramme et même 1/2 centigramme par kilogramme. Dans ces derniers cas, il s'agit surtout de remonter tout doucement l'état général des malades pour appliquer ensuite un traitement plus énergique. Lorsque les malades sont traités avec les doses maxima que nous venons d'indiquer — et c'est à notre avis la méthode de choix — les injections successives d'atoxyl doivent être faites à un intervalle d'au moins dix jours, sous peine de provoquer les accidents de rétinite et les aggravations nerveuses qui ont été signalées.

Ainsi manié, l'atoxyl n'est pas plus dangereux que la tryparsamide ou l'orsanine. Il peut être appliqué dans tous les cas et aucun médicament ne le vaut pour remonter rapidement l'état général des malades, même quand ils sont très déprimés. Lorsqu'on l'emploie, comme nous l'avons fait, dans des régions très contaminées, on assiste en quelques mois à une véritable résurrection des habitants et des villages, et tous ceux qui ont été témoins de ces résultats prodigieux resteront, comme nous-même, fidèles à l'atoxyl.

En résumé, nous ne pensons pas que ce remède soit contre-indiqué aux périodes avancées et nous estimons que, dans ces cas, son action stérilisante doit toujours compléter l'action curative de la tryparsamide. Il ne paraît pas indispensable, pour prescrire ce traitement mixte, qui peut être calqué sur celui des premières périodes, d'interroger le liquide lombaire.

Dans ce qui précède, nous avons surtout envisagé le traitement d'attaque qui, s'il est bien conduit, doit être décisif. Or, si ces premiers soins peuvent être donnés sans inconvénient, en

l'absence de tous renseignements concernant la réaction méningée, nous devons reconnaître qu'il n'en est plus de même pour les traitements ultérieurs. L'examen du liquide lombaire pourrait ici nous indiquer l'état exact de nos malades. Il nous servirait de guide pour les soins à donner et il nous permettrait d'économiser les médicaments que nous administrons inutilement aux nombreux trypanosomés que nous avons déjà guéris, mais dont, faute de contrôle, nous ignorons la guérison.

Et ceci nous amène à examiner si, au Cameroun, la ponction lombaire est praticable dans les conditions où nous opérons.

Nous ne parlerons plus des dangers éventuels que cette intervention peut faire courir aux malades de la première période, en cas de blessure des vaisseaux intrarachidiens et d'hémorragie méningée. Tout le monde est d'accord pour reconnaître que ce risque hypothétique n'est pas confirmé par les faits. Il serait d'ailleurs très atténué chez nous par le premier traitement.

Nous ne parlerons pas davantage des difficultés et des dangers qu'il y aurait à pratiquer la ponction lombaire en dehors des formations hospitalières, dans des hangars de fortune. Les communications du médecin général Lecomte et de Rodhain prouvent qu'on peut la faire sans inconvénient partout.

Nous ne parlerons même plus de la douleur qu'elle provoque puisque Marcel Leger nous a appris à la rendre indolore et nous ne retiendrons, contre elle, que la disproportion de nos moyens et de la tâche à accomplir.

Les 17 médecins du service de prophylaxie ont la charge et le contrôle de plus de 100.000 malades et la surveillance médicale de 1 million d'habitants. Nous ne pouvons leur demander d'entreprendre actuellement l'examen complet des malades.

Mais lorsque notre personnel aura été renforcé, quand les populations qui redoutent cette intervention seront apprivoisées, lorsqu'enfin les foyers seront pratiquement éteints, nous serons sans doute en mesure de faire à chacun de nos malades un examen du liquide lombaire qui nous permettra de contrôler leur état, de faire le point de nos opérations et de parachever la tâche commencée.

En attendant, nous devons nous borner à d'autres moyens de contrôle qui nous paraissent d'ailleurs suffisants pour juger l'efficacité de nos opérations. Nous allons les exposer.

Les moyens de contrôle de l'action prophylactique.

a) L'INDICE DE CONTAGION. — Les investigations des équipes de prospection, qui s'étendent périodiquement à la totalité de la population des régions contaminées, nous indiquent le nombre des nouveaux malades rencontrés chez les gens examinés antérieurement, à une date déterminée, et reconnus alors indemnes. En divisant ce chiffre par le nombre d'habitants correspondant, on obtient un quotient qui, rapporté à une année, donne *l'indice de contagion*. Cet indice montre la rapidité avec laquelle la maladie se propage dans le village et la région, mais, pour diverses raisons, il n'est pas toujours facile à calculer et il ne figurera que pour des points très limités dans les tableaux de cette étude.

b) INDICE DE MORBIDITÉ NOUVELLE. — Le nombre total des nouveaux malades, rapporté au nombre total des habitants visités, déduction faite du nombre des anciens malades, donne *l'indice de morbidité nouvelle* qui est peu différent de l'indice de contagion et qui est toujours facile à évaluer. Il montre avec précision l'activité du foyer.

c) INDICE DE STÉRILISATION. — Le pourcentage des anciens malades, qui sont indemnes de parasites dans la lymphe et dans le sang, nous donne *l'indice de stérilisation* qui nous montre l'action stérilisante des cures appliquées.

d) Enfin, en ajoutant aux nouveaux malades les anciens trypanosomés qui, malgré le traitement, ont encore des parasites dans les ganglions ou dans le sang, et en divisant le total par le nombre de gens visités, on obtient *l'indice de virus en circulation*. Ce coefficient est pour nous la véritable pierre de touche de l'efficacité de la prophylaxie médicale. Notre premier objectif étant de détruire les parasites de la circulation périphérique pour diminuer et, si possible, supprimer les risques

de contagion, lorsque l'indice du virus sera nul, ou qu'il se maintiendra au voisinage de zéro, nous serons très près d'avoir gagné la partie.

Ces indices ont été établis avec tout le soin possible et ils vont nous montrer, en même temps que l'évolution de la maladie dans la plupart des foyers du Cameroun depuis 1922, les résultats obtenus depuis novembre 1928 par la Mission de prophylaxie.

**La marche de la maladie
depuis le début des opérations prophylactiques
dans les zones épidémiques où les taux d'infection
sont partout supérieurs à 15 p. 100.**

Au début de cette étude, nous avons indiqué que les régions contaminées avaient été divisées en zones épidémiques, endémo-épidémiques et endémiques.

Les zones épidémiques englobent les subdivisions administratives d'Akonolinga et d'Abong-Mbang en totalité, celles de Lomé, de Bertoua et de Batouri en grande partie, et enfin les deux tribus Mvélés et Tsingas de la subdivision de Yaoundé.

Il serait logique d'étudier la marche de la maladie, tribu par tribu. La tribu est, en effet, une sorte de famille élargie, une entité sociale dont tous les membres vivent dans les mêmes conditions et sont exposés aux mêmes risques d'infection. Les tribus de pêcheurs qui habitent les rives des fleuves, et celles des payeurs qui vivent sur l'eau en contact permanent avec les tsés-tsés, sont naturellement plus exposées à l'infection que les tribus de cultivateurs ou de pasteurs qui vivent loin des cours d'eau. Chaque tribu constitue donc une sorte d'unité épidémiologique qui mériterait une étude séparée. Cette étude serait très intéressante, mais elle dépasserait le cadre de ce travail où nous nous bornerons à examiner l'évolution de la maladie dans quelques tribus particulièrement importantes et dans l'ensemble de chacune des subdivisions intéressées.

SUBDIVISION DE YAOUNDÉ.

Dans cette subdivision, la maladie est épidémique chez les Mvélés, les Tsingas et dans les villages de la tribu Yaoundé qui sont au nord du chef-lieu.

a) LES MVÉLÉS. — Les deux tribus Mvélés habitent au voisinage de la subdivision d'Akonolinga dont les villages frontières renfermaient, en 1922, de 14 à 51 p. 100 des trypanosomés.

Les *Mvélés-Est* furent visités, pour la première fois, en décembre 1926 et dans le premier trimestre de 1927, par le médecin-capitaine Le Rouzic qui y découvrit 9.368 malades sur 17.993 habitants examinés, soit 52 p. 100. Au cours des douze ou quinze mois qui suivirent, ces malades reçurent, à deux reprises, une série de six injections rapprochées de fortes doses d'atoxyl. La tribu fut revisitée par Le Rouzic en septembre et octobre 1928. Il y vit, cette fois, 19.006 habitants, mais n'y trouva que 261 nouveaux trypanosomés, et sur 8.158 anciens malades revus 75 seulement étaient porteurs de parasites.

Ainsi, dans cette région qui, au début de 1927, comptait 9.368 porteurs de germes, nous n'en trouvons plus, fin 1928, que 336, soit 1,7 p. 100.

Ces résultats, qui sont uniquement dus à l'atoxyl, ont déjà été signalés à la Société de Pathologie exotique et ont causé un certain étonnement. Cependant, deux ans plus tard, en octobre 1930, ils ont été confirmés par les médecins capitaines Mazé et Cavalade qui ont revisité la tribu.

Au cours de cette troisième prospection, 19.685 indigènes ont été examinés; 157 nouveaux malades ont été découverts et, parmi 7.733 anciens malades revus, 130 seulement avaient encore des parasites dans le suc ganglionnaire ou dans le sang, soit en tout 287 porteurs de germes (1,5 p. 100).

Les *Mvélés-Ouest* furent visités en 1927 par Le Rouzic qui y trouva 5.369 trypanosomés sur 14.882 visités, soit 36 p. 100. Les malades furent soignés à l'atoxyl comme les Mvélés-Est. Les résultats sont superposables. Fin 1929, Le Rouzic repros-

pecte la tribu. Il examine 15.443 personnes et ne trouve que 103 nouveaux malades. Parmi les anciens malades, 4.578 sont revus et, parmi eux, 37 seulement avaient des parasites dans le sang. Ainsi, dans cette tribu où, au début de 1927, 5.369 individus véhiculaient des trypanosomes, on ne trouve plus, fin 1929, que 140 porteurs de germes, soit 0,9 p. 100.

Le tableau suivant résume les observations qui précèdent et montre la régression de la maladie dans ces deux tribus sous l'influence de l'atoxyl :

TRIBUS	ANNÉES	POPULATION visitée	NOMBRE total de porteurs de germes	INDICE de virus en circulation °/o
Mvélès-Est.	1927	17.993	9.368	52
	1928	19.006	336	1,79
	1930	19.685	287	1,5
Mvélès-Ouest.	1927	14.882	5.369	36
	1929	15.443	140	0,9

b) LES TSINGAS. — Les Tsingas habitent au sud des Mvélès sur l'ancienne piste d'Akonolinga. En juillet 1927, Maury y trouve 616 malades sur 2.289 visités, soit 18,6 p. 100. En décembre 1928, il examine 3.368 personnes et découvre 39 nouveaux malades, soit 1,1 p. 100.

c) LES GROUPEMENTS YAOUNDÉS SITUÉS AU NORD ET AU VOISINAGE IMMÉDIAT DU CHEF-LIEU. — Ces groupements ont été submergés par la nappe épidémique du Nyong.

En 1927, 3.676 trypanosomés furent dépistés sur 16.287 visités, soit 21,8 p. 100. Ces malades furent traités comme leurs voisins par deux séries de six injections d'atoxyl.

En 1930, les villages sont revisités : 16.229 habitants dont 3.006 anciens malades sont examinés et 210 nouveaux trypanosomés, soit 1,6 p. 100, sont dépistés. Dans l'ensemble de ces groupements, la maladie est donc en régression, mais on note une légère recrudescence dans les villages les plus proches de Yaoundé, sur la route d'Akonolinga.

SUBDIVISION D'AKONOLINGA.

C'est dans cette subdivision que nous avons porté, dès 1920, notre premier effort.

Au début de 1924, nous écrivions : « Dans son ensemble, la « subdivision d'Akonolinga est un vaste foyer épidémique. Sur « une population totale de 48.350 habitants recensés, 44.540 « ont été visités et 18.852, soit 42 p. 100, reconnus trypano- « somés. »

Depuis cette époque jusqu'en 1927, 16 tournées d'atoxylisation sont faites au nord de la subdivision, sur la rive droite du Nyong, et 8 au sud du fleuve.

En 1927-1928, la subdivision est revisitée au nord du Nyong par les médecins capitaines de Marqueissac et Lavergne, au sud du Nyong par le médecin capitaine Banguion.

Dans l'ensemble de la subdivision, 48.172 habitants sont visités. Parmi eux, on trouve 14.828 anciens malades et 7.973 nouveaux, soit en tout : 22.801 trypanosomés dont 9.396 porteurs de germes.

L'indice de morbidité nouvelle est de 23 p. 100.

L'indice de virus en circulation est de 19 p. 100.

On constate que la maladie a sensiblement régressé au nord du Nyong, mais qu'elle a très fortement augmenté d'intensité au sud où la morbidité nouvelle s'élève à 30 p. 100 contre 16 p. 100 au nord du fleuve. Dans l'ensemble de la subdivision, la situation s'est nettement aggravée.

A la suite de cette tournée, tous les malades au sud du Nyong sont soignés comme d'habitude par une série de six injections d'atoxyl et environ un millier d'indemnes suspects de trypanosomiase reçoivent le même traitement.

Au nord du Nyong, les malades reçoivent, les uns une série de dix injections de tryparsamide, les autres un traitement mixte au novarsénobenzol et à la tryparsamide (deux injections de néo encadrant huit injections de tryparsamide). Il faut ajouter que la plupart des malades sont venus faire compléter ce traitement au Camp d'Ayos où ils ont tous été soignés à la tryparsamide.

En février, mars et avril 1930, la subdivision est entière-

ment revisitée par quatre équipes de recherches dirigées par les médecins capitaines Mazé, Cavalade, Lotte et Montalieu qui disposaient chacun de dix-huit infirmiers et de huit microscopes.

Chaque médecin est muni d'un recensement nominatif des villages qu'il doit visiter. Il peut ainsi procéder à l'appel nominatif des habitants par famille et par capita. Les décès, les naissances, les nouveaux venus, les absents et les disparus sont soigneusement consignés sur un registre dont le double, déposé aux archives, servira aux opérations futures.

AU NORD DU NYONG.

Sur 30.167 habitants recensés, 27.393 sont visités et on trouve parmi eux 309 nouveaux malades, soit 1,8 p. 100 de la population indemne en 1928.

L'indice de virus en circulation est tombé de 16 à 2 p. 100.

AU SUD DU NYONG.

L'épidémie est toujours menaçante à l'est, chez les Ssos et les Yéлиндas, mais dans l'ensemble de la population nous ne trouvons que 330 nouveaux malades au lieu de 4.908 trois ans plus tôt.

L'indice de la morbidité nouvelle est ainsi tombé de 30 p. 100 en 1927 à 2,2 p. 100 en 1930.

Le tableau et le diagramme suivants résument la marche de l'épidémie dans l'ensemble de la subdivision depuis 1922 :

	EN 1922-23	EN 1927-28	EN 1930
Population recensée.	48.330	52.336	56.907
Population visitée.	44.474	48.172	53.059
Anciens malades		14.828	21.551
Nouveaux malades		7.973	639
Population trypanosomée	19.054	22.801	22.190
Indice de morbidité nouvelle, p. 100.	42	23	2
Indice de virus en circulation, p. 100.		18	2,3
Indice de contagion, p. 100.		6	0,6

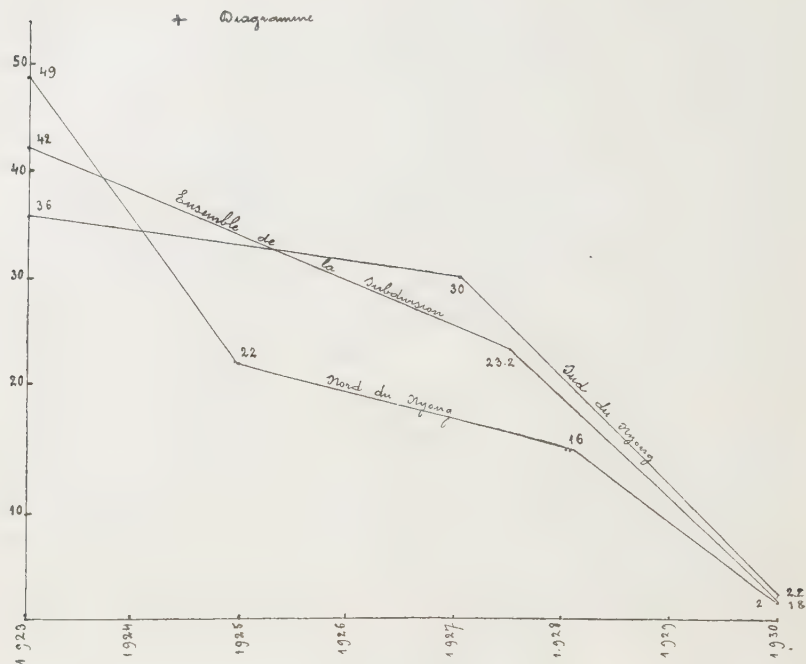


FIG. 8.

Ces chiffres montrent qu'après huit ans de lutte nous avons enfin réussi à faire reculer l'épidémie dans l'un des foyers les plus anciens et les plus actifs du territoire.

SUBDIVISION D'ABONG-MBANG.

C'est la subdivision la plus contaminée du territoire. Elle est située sur la rive gauche du Nyong et prolonge à l'est la région que nous venons d'étudier au sud du fleuve dans la subdivision d'Akonolinga. Quatre tribus la peuplent, les Makas qui vivent en bordure du Nyong, les Bikelés qui habitent le bassin du Long Mafog qui se jette dans le Nyong en face du Camp d'Ayos, les Poums-Poums et les Djems qui habitent sur la route d'Abong-Mbang à Lomié.

a) TRIBU MAKAS. — En 1923, la maladie sévissait avec une grande violence dans les villages de route d'Ayos à Atok. Les taux d'infection y variaient de 73 à 89 p. 100 et à Atok nous trouvâmes 953 malades sur 1.246 habitants, soit 76 p. 100.

A partir de là, la morbidité décroissait régulièrement et à Abong-Doum, dernier village avant Abong-Mbang, elle n'était que de 3 p. 100. Dans l'ensemble de la tribu, la morbidité moyenne était de 33 p. 100.

En décembre 1925, janvier et février 1926, de Marqueissac et Montestruc y recensent 2.440 nouveaux malades qui élèvent la morbidité à 47,7 p. 100. Ils constatent que, dans les villages situés entre Atok et Abong-Mbang, tous les indices sont augmentés. Les malades sont énergiquement soignés à l'atoxyl dont ils reçoivent plusieurs séries.

Deux ans plus tard, en novembre, décembre 1927 et en janvier 1928, Banguion y trouve 2.290 nouveaux malades et constate que dans tous les villages, sauf à Atok, l'épidémie a augmenté d'intensité. L'indice de morbidité nouvelle est de 33 p. 100 et la morbidité totale de 59,4 p. 100, au lieu de 33 p. 100 en 1923 et 47,7 p. 100 en 1925-1926.

A la suite de cette prospection, les anciens malades parasités sont traités à l'atoxyl et au néo; les anciens et nouveaux malades en mauvais état reçoivent dix injections de tryparsamide et les nouveaux malades en bon état sept injections d'atoxyl. Les habitants indemnes reçoivent six injections préventives d'atoxyl, sauf ceux de Makak, Makouagué, Bakadji, Bogofite et Ntimbé qui sont laissés comme témoins.

Du 2 mai au 25 juin 1930, la tribu est revisitée par Montalieu qui y voit 10.927 habitants dont 6.068 anciens malades. Il n'y trouve plus que 461 nouveaux malades, soit 9,6 p. 100 au lieu de 33 p. 100 en 1927-1928.

La régression du fléau est moins marquée ici qu'à Akonolinga; elle est cependant très manifeste.

b) TRIBE BIKELE. — *En 1923*, la morbidité moyenne de la tribu est de 22 p. 100.

En 1925-1926, de Marqueissac et Montestruc y trouvent 3.066 nouveaux malades (54 p. 100) qui élèvent la morbidité totale à 67 p. 100.

En février-mars 1928, Banguion y découvre 1.232 nouveaux malades, soit 44 p. 100, qui portent le nombre total des malades à 5.041 pour 6 394 habitants et l'indice de morbidité totale de 67 à 78,8 p. 100.

Le traitement appliqué est le même que chez les Makas.

En mars et avril 1930, la tribu est revisitée par l'hygiéniste Anastassiévitch. Sur 6.624 habitants recensés, 6.293 sont examinés dont 4.675 anciens malades; 99 nouveaux malades sont dépistés, soit 5,4 p. 100 au lieu de 54 p. 100 en 1925 et de 44 p. 100 au début de 1928.

Ici encore la régression est évidente.

c) TRIBUS POUMS-POUMS ET DJEMS. — Ces deux tribus ont été décimées par la maladie.

1° *Poums-Poums*. — *En 1923*, les Poums-Poums avaient trois villages et 799 habitants parmi lesquels le Dr Evrard trouva 155 malades, soit 19 p. 100.

En 1925-1926, on y trouve 146 nouveaux malades (52 p. 100).

En 1927, les trois villages sont réduits à deux qui, ensemble, ne comptent plus que 381 habitants.

Les malades reçoivent chacun dix injections de tryparsamide et les habitants indemnes six injections de fortes doses d'atoxyl.

En 1928, Bauguion n'y trouve que 8 nouveaux malades, soit 5,9 p. 100.

En juin 1930, Montalieu revisite la tribu. Il y voit 390 habitants dont 233 anciens malades et il trouve 22 nouveaux malades, soit 13,1 p. 100, ce qui indique une légère recrudescence de l'infection.

2° *Djems*. — *En 1923*, la tribu compte 2.229 habitants. Le Dr Evrard en visite 2.195 parmi lesquels il trouve 138 malades, soit 6 p. 100.

En 1925-1926, il n'y reste plus que 864 habitants chez lesquels de Marqueissac trouve 644 nouveaux malades (83 p. 100) et 96 anciens, soit en tout 740 trypanosomés et un indice de morbidité totale de 85,6 p. 100.

En juin 1927, nous visitons la tribu en compagnie du chef de la subdivision : l'administrateur Bernard Peux. Nous n'y trouvons que 642 habitants dont un grand nombre de sommeilleux très avancés.

L'atoxyl, dont chaque malade a reçu plusieurs séries, semble avoir épuisé son effet et il est impuissant à arrêter la mortalité

des grands malades qui est très élevée et impressionne beaucoup les survivants. De toute évidence, la tribu marche à grands pas vers sa disparition.

Nous avons alors l'idée de faire un premier essai de traite-

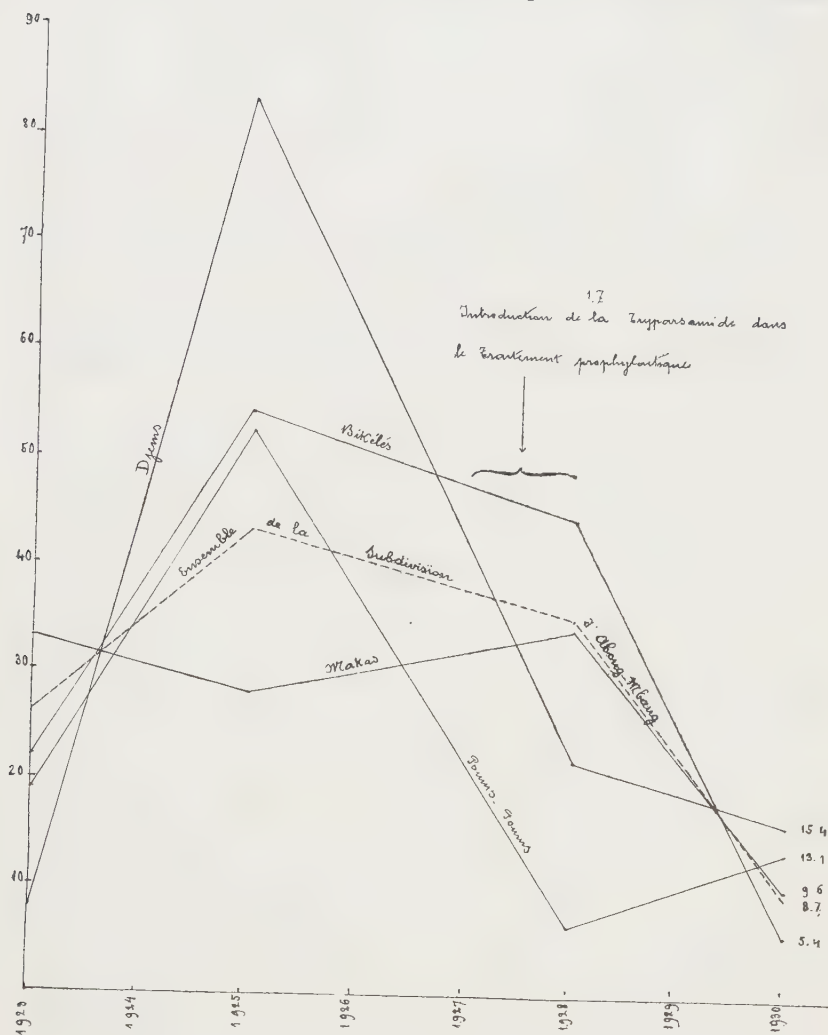


Fig. 9. — Courbes de la morbidité nouvelle dans chacune des tribus et dans l'ensemble de la subdivision d'Abong-Mbang, de 1923 à 1930.

ment des malades de la brousse par la tryparsamide sur les bases, depuis longtemps déjà appliquées à Ayos, de 4 à 5 centi-

grammes par kilogramme avec plafond de 3 grammes. Chaque malade reçoit ainsi une série de dix injections de tryparsamide et les non-malades une série de six injections de fortes doses d'atoxyl.

A la suite de ce traitement, la mortalité diminue, puis se stabilise comme par enchantement.

En avril 1928, Bauguion y voit 577 habitants et trouve 43 nouveaux malades, soit 21,7 p. 100.

Après cette visite, les malades reçoivent le même traitement que les Makas et les Bikelés.

En juin 1930, Montalieu y compte encore 561 habitants dont 362 anciens malades. Il en trouve 29 nouveaux, soit 15,4 p. 100.

Ce chiffre montre qu'ici comme dans la tribu voisine l'ennemi se défend vigoureusement. Il recule tout doucement, mais n'est pas encore complètement vaincu.

Les courbes qui suivent montrent la marche de l'épidémie dans chacune des tribus de la subdivision depuis 1923.

Le tableau suivant résume les observations qui ont été faites dans l'ensemble de la subdivision pendant le même temps :

	EN 1923	EN 1925	EN 1928	EN 1930
Population recensée	23.138	20.188	19.814	20.819
Population visitée	21.441	19.720	20.319	20.249
Anciens trypanosomés		5.054	9.079	11.857
Nouveaux trypanosomés		6.491	3.870	747
Nombre total des malades	5.546	11.545	12.949	12.604
Indice de morbidité nouvelle, p. 100.	26	43	34,4	8,7
Indice de virus en circulation, p. 100.	26		21,6	9,6

Il résulte du diagramme page 511 et des chiffres ci-dessus que, dans ce foyer, qui est le véritable berceau de la maladie du sommeil au Cameroun, le fléau nous a tenu en échec jusqu'à l'introduction de la tryparsamide dans la thérapeutique de brousse. Jusqu'en 1927, tous les malades de la subdivision sont énergiquement soignés à l'atoxyl, et nous assistons néanmoins à la fonte des Djems, des Poums-Poums et des Bikelés. Fin 1927 et début de 1928, nous associons, dans la mesure de nos moyens, la tryparsamide à l'atoxyl et nous notons presque aussitôt une diminution, puis un arrêt de la mortalité. En

1930, nous constatons une diminution considérable de la morbidité nouvelle qui tombe à 8,7 p. 100 après avoir atteint le taux formidable de 43 p. 100 en 1925 et de 34,4 p. 100 en 1928. Le virus en circulation a naturellement diminué parallèlement et il passe de 21,6 p. 100 en 1928 à 9,6 p. 100 en 1930. La chute de ces deux indices doit être enregistrée avec une grande satisfaction, car elle est le signal de la retraite du fléau.

SUBDIVISION DE LOMIÉ.

Elle est au sud de la précédente et s'étend dans cette direction jusqu'à la frontière du Moyen Congo.

Le Dja, qui forme le cours supérieur de la Ngoko, affluent de la Sangha, y prend sa source un peu à l'est de la route d'Abong-Mbang à Lomié, et il décrit une boucle en épingle à cheveu qui est ouverte à l'est et qui, à l'ouest, forme la frontière des subdivisions de Lomié et de Sangmélina.

Cinq tribus se partagent son immense territoire : les Djems, les Badjoués, les Dzimous, les Boulous et les Fangs.

Les Djems et les Badjoués habitent dans le bassin de la première partie du Dja qui est la zone la plus peuplée de la subdivision.

Le chef-lieu, Lomié, est au carrefour des quatre routes qui se dirigent l'une au nord-est vers Abong-Mbang, une deuxième au sud-est vers Éta et le Moyen-Congo, une troisième à l'est vers Yokadouma ; enfin la quatrième se dirige à l'ouest vers les villages Boulous de la boucle de Dja.

Les routes du sud et de l'ouest sont très peu peuplées, celles du nord et de l'est sont habitées par les Dzimous.

Les Allemands ont signalé que la maladie du sommeil était inconnue dans la région de Lomié en 1909.

En novembre 1921, Jojot visite la route d'Abong-Mbang à Lomié et, dans la partie de cette route incluse dans la subdivision de Lomié, il ne trouve qu'un seul malade à Djaposten. A la même époque, il examine, dans 53 villages Djems et Badjoués du Dja, 5.187 indigènes et il ne découvre parmi eux que 6 trypanosomés.

En février 1926, de Marqueissac visite le village de Djaposten et il y trouve 28 p. 100 de malades. Dans deux villages voisins,

à Bonkar et à Akoa, il en trouve 48 p. 100. Ces constatations font décider l'envoi d'un médecin à Lomié. Chambon, qui est désigné, entre en campagne en avril 1926 et, de cette date à avril 1927, il visite toute la subdivision. Sur une population totale de 28.244 habitants, il en examine 23.937 et découvre parmi eux 7.921 malades, soit 33,8 p. 100. Les tribus les plus éprouvées sont les Badjoués, les Djems et les Dzimous du canton de Talatala qui habitent la route de Lomié à Djaposten. Les taux d'infection de ces trois tribus sont respectivement de 57,6, 35,3 et 22,3 p. 100.

Tous ces malades reçoivent, après le diagnostic, une première injection d'atoxyl, puis, peu de temps après, une série de 6 injections de même dose.

Nous allons suivre l'évolution de la maladie dans chacune de ces tribus.

a) DJEMS. — Ce sont les frères de race de ceux qui ont été décimés dans la subdivision voisine d'Abong-Mbang. Ils habitent sur la piste qui longe le sud du Dja, les 10 villages qui sont les plus rapprochés de Djaposten.

En mars 1926, Chambon y a visité 1.140 personnes et découvert 403 malades, soit 35 p. 100. En avril 1928, il y trouve 123 nouveaux malades, soit 16 p. 100. En mai 1929, Chambon visite pour la troisième fois les Djems; il y trouve 146 nouveaux malades qui donnent une morbidité nouvelle de 24,9 p. 100.

Le coefficient de stérilisation des anciens malades n'est que de 75 p. 100. L'indice de virus en circulation est de 24,5 p. 100. Nous sommes donc ici dans un foyer épidémique extrêmement violent que deux séries de fortes doses d'atoxyl n'ont pas réussi à maîtriser.

Chambon prescrit alors à chacun des malades une injection d'atoxyl au moment de la visite, puis, une série de 10 injections de tryparsamide. La moitié des indemnes reçoit une série de 5 injections d'atoxyl à titre préventif.

Un an après, en juin 1930, le médecin-capitaine Lotte prospecte la tribu. Il y trouve encore 16,5 p. 100 de nouveaux malades et 17,3 p. 100 de virus en circulation. Il note 10,2 p. 100 de nouveaux malades chez les sujets traités préventivement par l'atoxyl et 22,2 p. 100 chez les non traités.

b) **BADJOUÉS.** — Ils habitent au nord de la subdivision, dans le bassin du Dja.

En 1926, Chambon y visite 11.342 indigènes, parmi lesquels il trouve 6.576 trypanosomés (60 p. 100).

En mai et juin 1928, il y dépiste encore 1.016 nouveaux malades, soit 20 p. 100. Il note que l'épidémie progresse partout, mais surtout au nord du Dja, dans les villages situés au voisinage des Bikelés d'Abong-Mbang où la morbidité moyenne est alors de 78,8 p. 100.

Au mois de décembre suivant, la situation ne s'est pas modifiée et après une vaste expérience sur l'action préventive du moranyl, qui aboutit d'ailleurs à un échec, de Marqueissac trouve dans l'un des deux cantons de la tribu, celui de Mam-pomo, 537 nouveaux trypanosomés.

Tous les malades reçoivent alors une série de dix injections de tryparsamide. Elle a une action très heureuse sur la marche de l'épidémie dans ce canton et, en juin-juillet 1930, soit un an et demi après, Lotte constate que la morbidité nouvelle est tombée de 26,5 à 3 p. 100 et l'indice de virus de 20,5 à 4 p. 100.

Dans le canton voisin de Mvolo-Mongo, et malgré un traitement préventif au moranyl, par voie veineuse et par voie buccale, la morbidité totale passe de 65 p. 100 en avril 1928 à 70 p. 100 en janvier 1929, et la morbidité nouvelle est alors de 16 p. 100. A la suite de cette troisième visite, tous les malades reçoivent une série de dix injections de tryparsamide.

En juin-juillet 1930, le médecin-capitaine Beaudiment visite le canton. Il n'y trouve plus que 6 p. 100 de nouveaux malades.

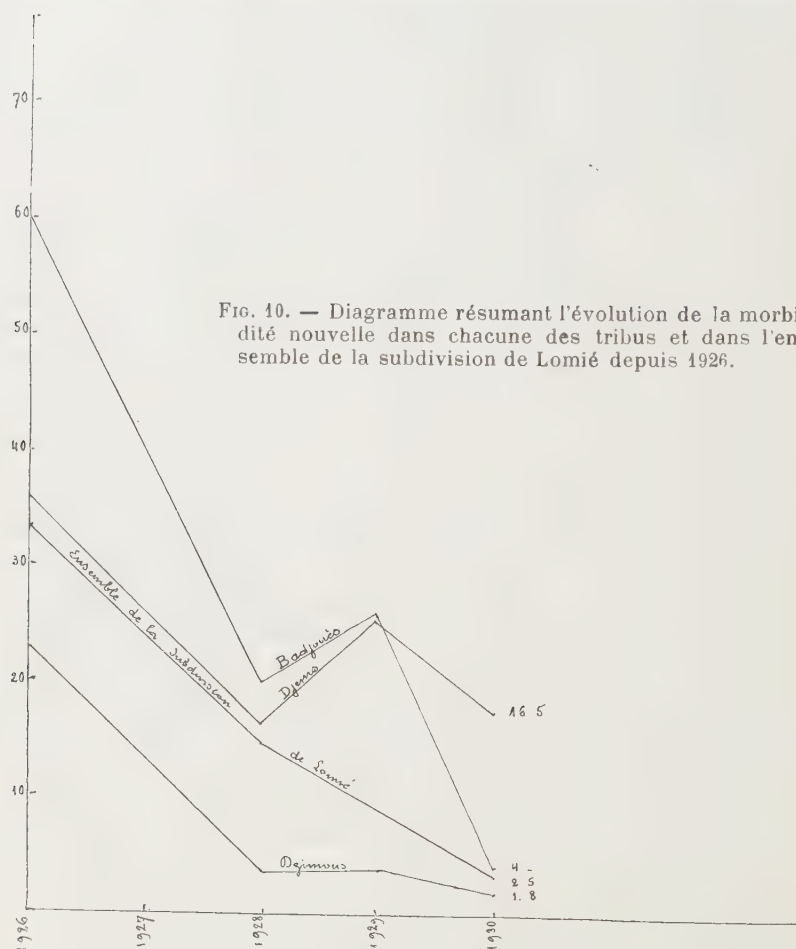
Dans l'ensemble de la tribu Badjoué, la dernière prospection Lotte-Beaudiment a examiné 10.513 habitants, dont 7.041 (67 p. 100) ont été reconnus trypanosomés. L'indice moyen de morbidité nouvelle qui était de 26,5 p. 100 en 1928 n'est plus que de 4 p. 100 et l'indice de virus est tombé, dans le même temps, de 15,8 à 4,6 p. 100.

L'épidémie a donc ici très fortement régressé.

c) **DZIMOUS ET TALATALA** (route de Lomié à Djaposten).

A sa première visite en avril 1926, Chambon y a trouvé 304 malades sur 1.345 habitants visités, soit 22 p. 100. Les malades sont soignés à l'atoxyl dont ils reçoivent sept injec-

tions. Deux ans plus tard, en avril 1928, Chambon ne trouve, dans ces mêmes villages, que 33 nouveaux malades, soit 3,4 p. 100. Depuis, ce résultat a été consolidé par la tryparsa-



mide et il s'est maintenu. C'est ainsi qu'en juillet 1930 Beaudiment n'y trouve que 1,8 p. 100 de nouveaux malades.

SUBDIVISION DE BERTOUA.

Elle est située dans le bassin de la Sanaga et limitée au nord par la circonspection de Ngaoundéré; à l'est, par la subdivision

de Batouri; à l'ouest, par celle de Nauga-Eboko; au sud, par celle de Doumé qui la sépare de la subdivision d'Abong-Mbang que nous avons étudiée. Elle est bornée au sud par la grande route de Yaoundé à Bangui.

Sa population est évaluée à 33.000 indigènes qui habitent presque tous la rive gauche du grand fleuve.

La première prospection médicale sérieuse de cette contrée fut faite en 1921-1922 par Huot qui ne la visita d'ailleurs qu'en partie, mais qui garde le mérite d'avoir découvert le foyer épidémique Baya de Bertoua où il trouva 407 malades sur 742 habitants (54 p. 100) et celui qui sévit plus à l'ouest, au voisinage du Long et de la subdivision de Nauga-Eboko, chez les Banvelés-Bobilis, où il dépista 950 trypanosomés sur 3.342 habitants, soit 28 p. 100.

En 1923, notre regretté camarade Corson fit visiter la région par une équipe d'infirmiers indigènes qui ne put voir que le tiers de la population, soit 10.485 habitants sur 33.121 recensés. Elle dépista néanmoins 2.030 trypanosomés, montra que, dans le triangle formé par la route de Bertoua à Deng-Deng, la route de l'Afrique Equatoriale Française, le Long et la Sanaga, la maladie à cette époque était épidémique.

En 1925 et 1926, plusieurs tournées sont faites dans la région, mais, comme au cours de celles qui précèdent, on ne voit qu'une faible partie de la population et des malades.

En 1927 et 1928, après la création de la Mission de prophylaxie, Vernon, Meydiou et Lavergne visitent méthodiquement et minutieusement tous les villages de la subdivision. Ils réussissent ainsi à examiner 28.246 habitants parmi lesquels ils trouvent 1.994 anciens malades et 7.567 nouveaux. Le nombre total des malades est de 9.561; la morbidité moyenne de 34,7 p. 100, la morbidité nouvelle de 29,8 p. 100 et l'indice de virus de 28,6 p. 100.

Tous ces malades sont traités à l'atoxyl : sept injections de fortes doses.

D'août 1929 à mars 1930, Lavergne revisite très soigneusement la région. Sur 33.121 habitants recensés, il en voit 32.354 et trouve parmi eux 8.246 anciens malades et seulement 75 nouveaux.

L'indice de morbidité nouvelle est ainsi tombé de 34,7 p. 100 à 0,2 p. 100 et l'indice de virus de 28,6 à 0,3 p. 100.

Ces résultats, absolument inespérés, correspondent à ceux que nous avons observés après deux séries de sept injections d'atoxyl chez les Mvélés de Yaoundé. Ils ont été consolidés depuis la dernière prospection par le traitement de tous les malades à la tryparsamide.

Le diagramme ci-dessous montre la marche de l'épidémie dans chacune des tribus et dans l'ensemble de la subdivision, depuis 1921-1923.

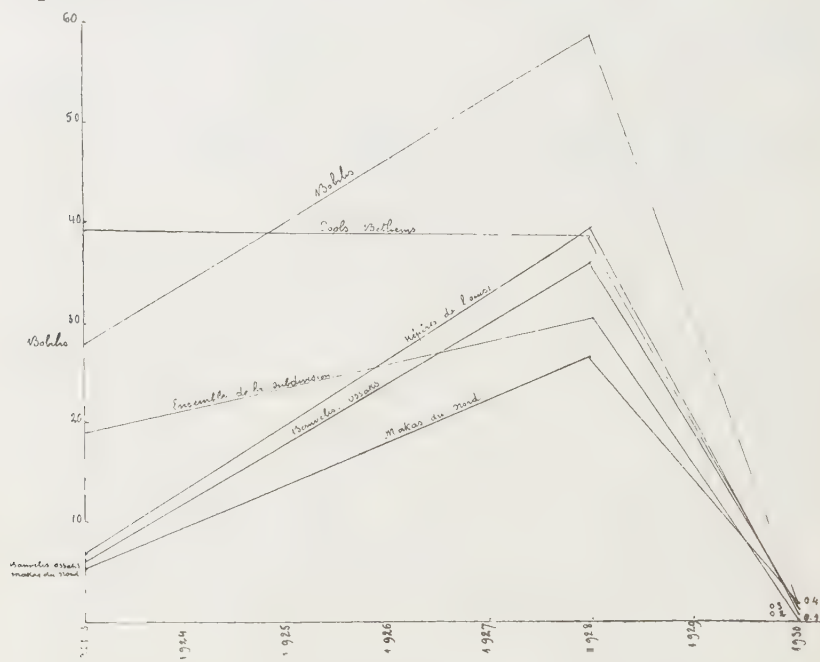


FIG. 11.

Le tableau suivant résume les observations qui ont été faites dans l'ensemble de la subdivision depuis 1922 :

	EN 1921-22-23	EN 1927-28	EN 1929-30
Population recensée.	17.389	26.739	33.121
Population visitée.	10.485	28.246	32.354
Anciens trypanosomés		1.994	8.216
Nouveaux trypanosomés		7 567	75
Nombre total de malades	2.030	9.561	8.291
Indice de morbidité totale p. 100 . .	19,3	34,7	25,6
Indice de morbidité nouvelle p. 100.	19,3	29,8	0,2
Indice de virus en circulation p. 100.	19,3	28,6	0,3

Lorsque nous quittâmes le Cameroun, en mars 1934, les résultats obtenus dans le secteur de Batouri ne nous étaient pas parvenus. Nous n'en parlerons donc pas. Mais nous résumerons ceux qui ont été observés dans les deux zones épidémiques que nous venons d'étudier dans les diagrammes suivants qui montrent la marche de la maladie dans chacune des subdivisions administratives intéressées, depuis le début des opérations prophylactiques.

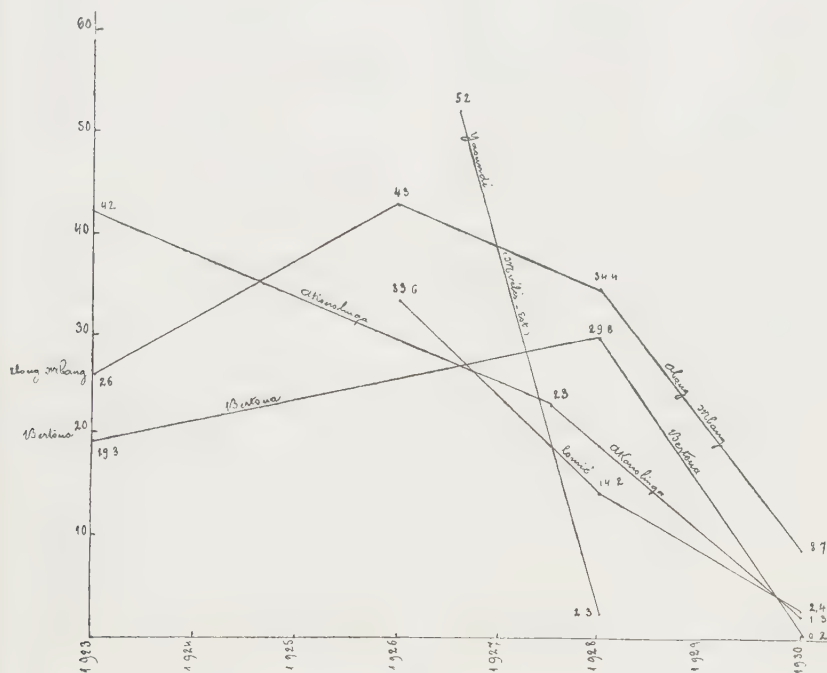


FIG. 42.

Comme dans tous les diagrammes précédents, les chiffres de tête des ordonnées représentent les indices moyens de la *morbidity totale* et les chiffres suivants les indices moyens de la *morbidity nouvelle* de chaque subdivision.

La décroissance de ces derniers indices montre que l'épidémie est partout en régression.

La marche de la maladie dans les zones endémo-épidémiques
où les taux d'infection
sont tantôt supérieurs et tantôt inférieurs à 15 p. 100.

a) FOYER DE DOUMÉ.

Les trois nappes épidémiques du Nyong, de Bertoua et de Batouri limitent dans la région de Doumé une zone où la maladie a évolué beaucoup moins vite que dans les régions qui précèdent.

Cette zone se confond avec la subdivision actuelle de Doumé et la tribu des Médjimés, qui est maintenant rattachée à Batouri. Nous ne parlerons pas de cette dernière tribu, faute de renseignements concernant la dernière année (1930), et nous étudierons seulement la maladie dans la subdivision de Doumé.

Cette unité administrative est limitée au nord par la subdivision de Bertoua, à l'est par celle de Batouri, à l'ouest par celle de Nanga-Eboko, au sud par le Haut cours du Nyong, qui la sépare de la subdivision d'Abong-Mbang.

TRIBUS	RECENSÉS	VISITÉS	TRYPANOSOMÉS	COEFFICIENTS d'infection p. 100
Mvangs	6.871	4.083	328	8
Pakoums et Pols	2.490	1.084	156	14
Makas du centre	21.493	10.571	1.000	9,3
Population flottante de Doumé.	861	861	23	2,6
Total.	31.715	16.599	1.507	9

Sa population est groupée en trois tribus : les Mvangs qui habitent à l'ouest dans l'étroit couloir formé par la rivière Ayong et la frontière de la subdivision d'Akonolinga ; les Pakoums, qui sont sur la route de Doumé à Bertoua (nous engloberons dans cette dernière tribu deux petits villages Pols qui sont situés sur la même route à proximité de Doumé) ;

enfin, les Makas du centre qui peuplent le reste de la subdivision et, en particulier, la rive droite du Nyong.

Fin 1923, on avait recensé dans ces trois tribus 31.715 habitants; 16.599 avaient été visités, et 1.507, soit 9 p. 100, avaient été reconnus trypanosomés

Ces premières observations sont condensées dans le tableau de la page précédente.

A cette époque, la maladie est ici partout endémique; mais chez les Pakoums et dans un certain nombre de villages Makas, riverains du Nyong, elle tend à évoluer vers la forme épidémique.

En mai, juin et juillet 1928, Vernon et Banguion reprocurent complètement les Mvangs et les Makas; Meydieux et Lavergne visitent les Pakoums.

Les résultats de leurs investigations sont résumés dans le tableau ci-après :

TRIBUS	RECENSÉS	VISITÉS	ANCIENS trypanosomés	NOUVEAUX trypanosomés	NOMBRE total de malades	INDICE de morbidité totale p. 100	INDICE de morbidité nouvelle p. 100
Mvangs	6.883	7.239	246	376	622	8,5	3,3
Pakoums et Pols .	4.761	4.864	362	618	980	20	13,7
Makas du centre .	24.350	23.897	1.042	3.230	4.272	17,8	14
Total	35.994	36.000	1.650	4.224	5.874	16,2	12,2

On voit, par ces chiffres, que la maladie a pris l'allure épidémique chez les Pakoums et les Makas. Chez les Makas riverains du Nyong, la morbidité nouvelle atteint 21 p. 100.

Traitement : A la suite de cette prospection, les nouveaux et les anciens malades reçoivent le traitement habituel à l'atoxyl; tous les autres malades anciens et nouveaux en mauvais état et ceux qui sont encore parasités reçoivent une série de 10 injections de tryparsamide.

En décembre 1929, Lavergne revisite les Pakoums, et en juin et juillet 1930 Mazé et Cavalade revoient les Mvangs et les Makas du centre.

Voici le résultat de leurs observations :

TRIBUS	RECHENSÉS	VISITÉS	ANCIENS malades	NOUVEAUX malades	NOMBRE total de trypanosomés	INDICE de morbidité totale p. 100	INDICE de morbidité nouvelle p. 100
Mvangs	7.833	7.325	658	46	674	8	0,2
Pakoums et Pols . .	5.530	5.266	849	30	879	16,6	0,6
Makas du centre . .	27.704	25.473	4.150	373	4.523	17,5	1,7
Total	41.064	38.064	5.657	449	6.076	15,7	1,3

Le diagramme suivant va permettre de suivre la marche de la maladie dans chacune des tribus et dans l'ensemble du foyer.

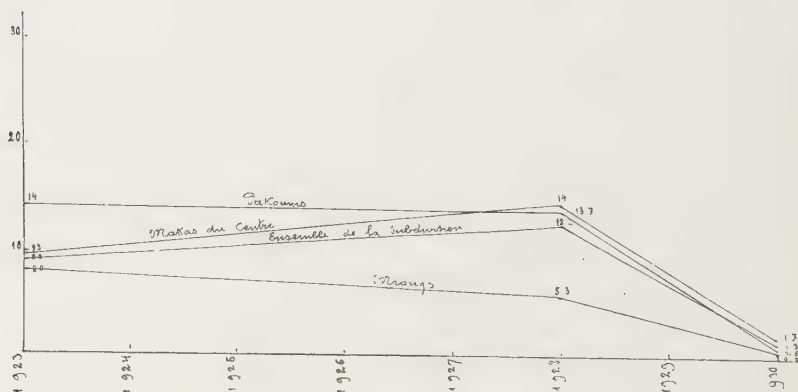


FIG. 43.

Diagrammes et tableaux montrent que dans ce foyer où la première visite n'avait vu que la moitié à peine des habitants et, vraisemblablement, des malades et où, pendant près de cinq ans, rien n'a été fait en dehors de quelques tournées d'atoxylisation, l'endémie n'a évolué que très lentement chez les Pakoums et les Makas vers la forme épidémique, et qu'il a suffi d'une intervention sérieuse, au cours de laquelle la population entière a été visitée, et presque tous les trypanosomés dépistés et énergiquement soignés, pour que le mal soit maîtrisé.

b) FOYER DE NANGA-EBOKO.

Il est au contact des deux grands foyers épidémiques d'Akonolinga et de Bertoua qui ont envahi la région de Nanga-Eboko par l'est et par le sud.

D'août 1927 à mars 1928, Montestruc étudie pour la première fois ce foyer et établit que la maladie est endémo-épidémique dans toute la partie de la subdivision qui est située au sud de la Sanaga; que, dans les villages frontières d'Akonolinga et de Bertoua, la maladie est épidémique et a déjà fait de nombreuses victimes; que la partie de la subdivision qui est au nord de la Sanaga est indemne; enfin, que les villages situés sur la piste de Nanga-Eboko à Yoko, et sur la route de Yoko aux chutes de Nachtigal, sont également indemnes.

Dans l'ensemble de la subdivision, Montestruc examine 27.725 habitants et dépiste 4.356 trypanosomés, soit 15,7 p. 100, qui reçoivent le traitement classique des 7 injections d'atoxyl.

Du 4 avril au 18 août 1929, soit un an et demi après sa première tournée, Montestruc revisite le foyer. Il n'y trouve que 235 nouveaux malades, soit 0,8 p. 100, et un indice de virus en circulation de 1 p. 100.

Nous sommes donc ici dans un foyer endémo-épidémique qui a été maîtrisé, au moins momentanément, par une seule série de 7 injections d'atoxyl, et qui est manifestement en voie de régression.

c) FOYER DES MANGUISSAS ET DES ETONS VOISINS DE LA SANAGA.

En décembre 1927 et janvier 1928, Le Rouzic visite pour la première fois les tribus Manguissas et Etons-Ouest qui habitent dans la subdivision de Yaoundé, au voisinage de la Sanaga et au nord-ouest du chef-lieu.

Sur 10.794 Manguissas visités, il trouve 1.863 trypanosomés, soit 17,2 p. 100.

Sur 40.757 Etons, il trouve 4.441 malades, soit 11,4 p. 100.

Tous ces malades reçoivent 2 séries de 6 injections d'atoxyl.

En septembre et octobre 1930, Beaudiment reprofecte les Manguissas. Sur 1.657 anciens trypanosomés revisités, 2 seule-

ment ont des parasites dans le sang, et dans le reste de la population il ne trouve que 4 nouveaux malades, soit 6 porteurs de germes en tout, dans une tribu qui, fin 1927, en avait 1.863.

Chez les *Etons-Ouest* riverains de la Sanaga, la situation est différente.

En novembre et décembre 1930, ils ont été revisités par Montalier, qui a découvert dans les villages de Monatéle I, Lekoun, Ndoup, Monatéle II et Leven, qui sont tous très proches de la Sanaga, 1.083 nouveaux malades donnant une morbidité nouvelle de 28 p. 100. De plus, sur 623 anciens trypanosomés revisités et soignés comme les malades Manguissas par 2 séries de 6 injections de fortes doses d'atoxyl, 236, soit 37,8 p. 100, sont parasités. Dans ces cinq villages, les indices de virus en circulation sont respectivement de 24, 43, 24, 21 et 43 p. 100.

Il est étrange que, dans un foyer où les conditions épidémiologiques semblent partout identiques, et où tous les trypanosomés ont reçu le même traitement appliqué par les mêmes infirmiers, certains groupes de malades soient presque complètement stériles et d'autres parasités dans de très fortes proportions. Mais nous nous bornerons à signaler le fait, nous gardant de toute hypothèse sur les causes éventuelles de ce brutal réveil épidémique.

d) FOYER DE BAFIA.

En 1922, M. Bernard Peux, Administrateur des Colonies, qui présidait alors aux destinées de la subdivision de Bafia, nous signale un foyer de trypanosomiase au nord de la Sanaga et au sud-ouest de Bafia. Il se pourrait que ce foyer fût très ancien et contemporain de l'occupation allemande, car nos prédécesseurs ont signalé que l'endémie existait sur la rive droite du Mbam et, nulle part ailleurs, nous n'en avons trouvé trace.

Les notables indigènes de la région ne la font remonter qu'à 1921, époque à laquelle les gens de la tribu Yambassa, qui avaient été recrutés pour aller faire du caoutchouc dans l'est, revinrent dans leurs villages.

Quoi qu'il en soit, en 1924, Deumié visite dans cette région 11.092 habitants, parmi lesquels il découvre 1.440 malades.

En janvier 1926, Sanner trouve, dans la même contrée, 440 nouveaux malades et, en octobre 1926, après la création de la Mission de prophylaxie, il entreprend l'étude méthodique du foyer. A son départ, en juillet 1927, il a examiné 36.385 indigènes et recensé 2.204 trypanosomés : 952 anciens et 1.252 nouveaux.

Le D^r Monier le remplace en août 1927 et poursuit la tâche commencée. D'octobre 1927 à mars 1928, il visite le reste de la subdivision de Bafia, puis les tribus des subdivisions voisines de Ndikinéméki et de Babimbi où la maladie s'est propagée. Il détermine ainsi les limites du foyer qui est localisé au nord de la Sanaga, dans le fer à cheval formé par ce fleuve et ses deux affluents, le Mbam et la Livoua. A l'ouest et au nord-ouest, l'endémie a débordé dans les subdivisions voisines et s'est propagée chez les Banens de Ndikinéméki et les Omengs de Babimbi.

Le cœur du foyer est très contaminé et les taux d'infection y sont parfois très élevés, mais la zone épidémique s'arrête brusquement et, à côté de villages où la morbidité est de 26, 27, 28, 33 et 52 p. 100, nous en trouvons d'autres où les taux sont de 1, 2, 3, 5, 6 et 9 p. 100. Ici comme partout, la zone épidémique est incluse dans une zone endémique où meurent les courants de contagion.

Dans l'ensemble du foyer, Sanner et Monier ont recensé 6.120 malades, 952 anciens et 5.168 nouveaux.

Les taux d'infection des Bafias, des Yambassas, des Lémandés et des Banens, qui sont les quatre tribus les plus contaminées du foyer, sont respectivement de 7, 9, 14,4 et 3 p. 100.

Tous les malades reçoivent, les uns le traitement habituel à l'atoxyl, les autres une série de dix injections de doses variables de tryparsamide.

En 1928, les tribus Bafia, Yambassa et Lémandé sont revisitées. On y revoit 3.879 anciens malades et 2.074 nouveaux, et on note que les indices de morbidité nouvelle sont de 3,7 p. 100 chez les Bafias, de 5,8 p. 100 chez les Yambassas, et de 1,8 p. 100 chez les Lémandés.

Les nouveaux malades sont traités à la tryparsamide, les anciens à l'atoxyl ou à l'atoxyl associé au novarsénobenzol.

En 1929, tout le foyer est revisité : 5.957 anciens malades

sont revus et 619 nouveaux cas sont diagnostiqués. Les indices de morbidité nouvelle des Bafias, des Yambassas et des Lémandés, qui étaient respectivement de 3,7, 9,0 et 1,8, tombent à 1,4, 1,3 et 0,7.

Les anciens malades sont traités à l'atoxyl, les nouveaux à la tryparsamide.

En octobre, novembre et décembre 1930, une nouvelle prospection est faite par Mazé, Cavalade et Beaudiment : 7.068 malades sont recensés, 850 nouveaux et 6.218 anciens.

Les indices de morbidité nouvelle des Bafias, des Yambassas et des Lémandés, qui étaient de 1,4, 1,3 et 0,7, sont passés à 1,1, 1,7 et 0,6.

Chez les Banens de Ndikinéme, qui ont été très énergiquement soignés à la tryparsamide, la morbidité nouvelle, qui était de 1 p. 100 au début de 1929, est actuellement de 2,7 p. 100.

Nous allons résumer, dans le diagramme suivant, toutes ces observations :

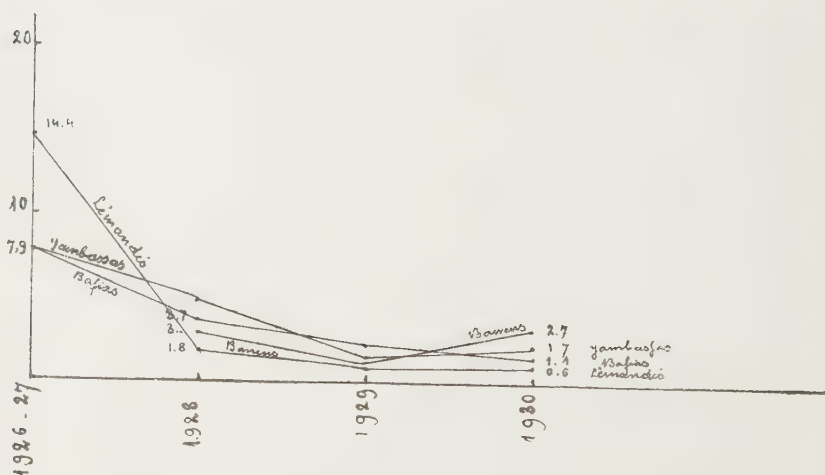


FIG. 14.

Un examen attentif de ce diagramme montre que l'endémo-épidémie n'est pas encore complètement maîtrisée chez les Bafias et les Lémandés et qu'elle tend à progresser, comparativement à 1929, chez les Yambassas et les Banens.

e) FOYER DE SANGMÉLIMA.

Ce foyer se confond avec la subdivision de Sangmélima.

Cette région est visitée par Chambon, pour la première fois, de mai à décembre 1927.

Chambon constate que la maladie est endémo-épidémique dans la tribu Bengbis qui habite la partie de la subdivision qui est au nord de la Lobo, gros affluent du Dja. Cette tribu est voisine des Ssos d'Akonolinga et des Badjoués de Lomié qui sont, nous l'avons vu, très contaminés. Sur 5.276 personnes examinées, 1.445, soit 27,3 p. 100, sont reconnues trypanosomées.

Dans le quadrant formé par le Dja, la Lobo et la route qui, de Sangmélima, se dirige vers l'est dans le bassin de la Libi, on observe plusieurs foyers épidémiques. L'un des plus importants englobe le chef-lieu et menace de s'unir au foyer qui s'ébauche au nord de Sangmélima sur la grande route de M'balmayo et sur la piste de Bengbis, par Nkolayop. Chambon visite dans cette zone environ 20.000 habitants parmi lesquels il découvre 1.576 malades, soit en moyenne 8 p. 100 avec 38,5 p. 100 comme indice maximum.

Dans la région en forme de croissant, qui est située en dehors de cette zone et qui est limitée par la frontière de la subdivision de Sangmélima, on ne trouve dans une population de 1.708 habitants que 406 malades, soit 2 trypanosomés pour 100 habitants.

Dans l'ensemble de la subdivision, sur 42.453 habitants recensés, 35.671 sont visités et 3.427, soit 9,5 p. 100, sont reconnus trypanosomés.

Ces malades reçoivent le traitement habituel à l'atoxyl.

De septembre à décembre 1929, la subdivision est revisitée par Chambon et Montestruc.

Sur 47.039 habitants recensés, 40.017 sont visités, 3.712 anciens malades sont revus et 1.204 nouveaux trypanosomés sont découverts, soit 3,8 p. 100.

Dans le pays Bengbis, la morbidité nouvelle est de 4,6 p. 100.

Dans le canton voisin d'Akama-Mvoto, situé au sud de la Lobo, dans le quadrant limité comme il est dit ci-dessus, la morbidité nouvelle est de 4,5 p. 100.

Dans le canton de Zam Mfenda, qui est à cheval sur la route de Sangmélina à Vimeli et à proximité de Sangmélina, on trouve 4 p. 100 d'infections nouvelles.

Dans le canton d'Essiane qui englobe le chef-lieu, la morbidité nouvelle n'est que de 2,2 p. 100.

Dans le canton de Mvondo Eboa, qui est au nord-ouest de la subdivision, au voisinage des subdivisions d'Akonolinga et de Vimeli, la morbidité nouvelle est de 1,8 p. 100.

Dans celui de Zili Nimbé, qui est au sud-est de la subdivision, sur la piste de Sangmélina à Djoum, la morbidité nouvelle n'est que de 0,5 p. 100.

Enfin, dans le canton de Mboutou Abeng, qui est à l'ouest de la subdivision, au voisinage de celle d'Ebolowa, la morbidité nouvelle est de 1,6 p. 100.

Ainsi, dans ce foyer, la maladie progresse activement dans le pays benghis et dans les cantons d'Akama Mvoto et de Zam Mfenda qui sont dans la boucle de la Lobo.

Dans le canton d'Essiane Mkwang, qui est à l'est de Sangmélina, et dans celui de Mboutou Abeng, qui est à l'ouest, à cheval sur la route de Sangmélina à Ebolowa, la progression est un peu moins forte.

Dans les deux cantons de Mvondo Ekoa et de Zili Membé qui sont le premier au nord-ouest et le second au sud-est de la subdivision, l'endémie reste à peu près stationnaire avec une légère tendance à l'augmentation.

Dans l'ensemble de la subdivision, la morbidité nouvelle est de 3,8 p. 100, la morbidité totale de 12,1 p. 100, l'indice de virus en circulation de 3,5 p. 100.

Evolution de la maladie dans les zones endémiques où les taux d'infection sont partout inférieurs à 15 p. 100.

a) SUBDIVISION DE SANGMÉLINA.

En étudiant le foyer de Sangmélina, nous avons vu que, dans les cantons de Mvondo Ekoa, de Mboutou Abeng et de Zili Membé qui bordent à l'ouest la zone endémo-épidémique proprement dite, la maladie a une légère tendance à la progression. Mais il n'en est pas partout ainsi.

b) SUBDIVISION D'EBOLOWA.

Au cours de sa première tournée dans la subdivision de Sangmélina, Chambon avait constaté que l'endémie avait débordé la frontière et qu'elle se propageait dans la direction d'Ebolowa. Dans cette dernière subdivision, il visite en janvier 1928 les tribus menacées et trouve chez les Boulous, les Banes et les Fongs, 44 trypanosomés sur 8.411 habitants examinés, soit 0,5 p. 100.

Ces malades furent isolés dans un village de ségrégation construit à leur intention près du poste d'Ebolowa.

En décembre 1929, Montestruc revisite les mêmes tribus et il n'y trouve que six nouveaux malades, dont deux sont originaires d'Akonolinga et de Sangmélina. Il semble donc bien que de ce côté la maladie soit arrêtée et que la menace que le foyer de Sangmélina faisait planer sur les populations d'Ebolowa soit maintenant conjurée.

c) SUBDIVISION DE LOMIÉ.

1° DZIMOUS DE L'EST. — Aux environs du poste de Lomié et sur les pistes qui en partent dans la direction de Yokadouma, habitent les Dzimous de l'Est qui sont les frères de race de ceux que nous avons vus sur la route de Lomié à Djaposten. A l'âge d'or du caoutchouc, ces Dzimous étaient à peu près les seuls producteurs de la région, mais ils ne consentaient pas à apporter leur récolte au delà de leurs villages et ceci leur a valu d'être contaminés par les Badjoués que les traitants devaient recruter pour transporter leurs charges de caoutchouc à Lomié et à Abong-Mbang.

En 1926, Chambon les visite pour la première fois et, sur 5.352 personnes examinées, il découvre 74 trypanosomés.

En 1928, il en trouve 38 nouveaux dans les villages proches de Lomié.

C'est à ce moment que tous ces malades, anciens et nouveaux, furent réunis dans un village de ségrégation situé au voisinage du poste.

En 1929, une visite de tous les villages fit découvrir 69 nou-

veaux malades qui furent aussitôt isolés dans le village de ségrégation.

Enfin en juin-juillet 1930, Beaudiment n'y a trouvé que 15 nouveaux malades qui sont allés rejoindre leurs camarades d'infortune dans le village d'isolement.

Il est inutile d'ajouter que tous ces malades isolés sont énergiquement soignés.

Nous espérons que la visite périodique et aussi fréquente que possible des villages et l'isolement immédiat des malades aura raison de l'endémie qui semble ici en voie de régression.

2° CANTON BOULOU. — Le canton Boulou où la maladie est également endémique est situé à l'ouest de la subdivision dans la boucle du Dja.

En 1926, il comprenait 12 villages et 1.675 habitants. En octobre 1926, Chambon y trouve 102 trypanosomés, soit 7,6 p. 100. Ces malades reçurent deux séries de six injections d'atoxyl, l'une en décembre 1926, l'autre en août 1928.

En avril 1929, Chambon revisite le canton et y découvre 60 nouveaux malades.

Après cette deuxième tournée, tous les malades anciens et nouveaux reçoivent dix injections de tryparsamide.

En juin 1930, Lotte revoit les villages. Il n'y trouve plus que 33 nouveaux malades dont 18 dans le village de Bissombo qui est situé sur le Dja et qui est devenu un petit foyer épidémique à la frontière des subdivisions de Lomié et de Sangmélina.

La morbidité nouvelle, qui était de 4,7 en 1929, n'est plus maintenant que de 2,5 p. 100, et dans tous les villages autres que Bissombo la maladie est maîtrisée.

3° ROUTES DE LOMIÉ A ETA ET DE LOMIÉ A DJOUM. — Chambon visite ces deux routes pour la première fois en 1927.

Sur la route de Djoum, entre Lomié et le Dja, il voit 350 indigènes parmi lesquels il trouve 6 trypanosomés, dont 4 dans le village d'Azem riverain du Dja. Sur celle de Lomié à Eta, il examine 1.571 personnes et ne trouve qu'un malade.

En 1929, Chambon revisite ces deux routes et, sur 2.287 habitants examinés, il ne trouve qu'un seul malade. Elles peuvent donc être considérées comme à peu près indemnes.

d) FOYER DE BAFIA.

Nous avons vu que le foyer était naturellement limité au nord-est et au sud-ouest par le Mbam et la Livoua, affluents de la Sanaga, et qu'au nord-ouest et à l'ouest il avait débordé les limites de la subdivision de Bafia pour se propager chez les Banens de Ndikinéméki et les Omengs de Babimbi.

Nous avons de même signalé que les villages qui entourent la zone épidémique du foyer sont très peu contaminés.

Pour empêcher l'infection massive de ces villages et protéger les autres tribus des subdivisions de Bafia, de Ndikinéméki et de Babimbi, tous les malades de la zone endémique, sauf les Banens de Ndikinéméki, ont été groupés, dès 1928, dans des villages d'isolement où ils ont été surveillés et soignés.

Les visites successives du foyer ont montré que dans la zone d'endémie la maladie n'a manifesté aucune tendance à l'augmentation et à l'extension, sauf chez les Banens de Ndikinéméki où elle est nettement en progression.

Il fallait craindre également qu'elle ne s'étendît à l'est sur la rive gauche du Mbam et la rive droite de la Sanaga. Or, la dernière prospection de cette région (janvier 1931) a montré qu'elle restait indemne.

e) SUBDIVISION DE YAOUNDÉ.

Dans la région de Yaoundé, l'épidémie, venant de l'est, s'est arrêtée aux portes mêmes du chef-lieu et au voisinage de la route de Yaoundé à Yoko.

Cette zone épidémique est séparée de la zone endémo-épidémique que nous avons étudiée chez les Etons et les Manguissas riverains de la Sanaga par un couloir qui s'élargit du nord-est au sud-ouest et où la maladie est endémique. Ce couloir est habité par 75.000 Etons environ dont 65.864 furent visités en 1927 par Le Rouzic qui trouva parmi eux 1.964 malades, soit 3 p. 100.

Ces malades n'ont pu être isolés dans des villages de ségrégation, mais pour essayer d'éviter la fusion du foyer épidémique du Nyong avec celui de la Sanaga ils ont été traités avec un soin particulier.

En novembre et décembre 1930, Floch'lay a revisité la partie de la tribu Eton qui est à l'ouest de la route de Yaoundé à Yoko et il a constaté que l'endémie était franchement en régression.

Dans un groupe de villages, où Le Rouzie avait trouvé 147 trypanosomés en 1927, Floch'lay n'en trouve que 7 nouveaux deux ans et demi après et parmi les anciens malades 1 seul est positif.

Nous n'avons pas de renseignements pour la partie nord du couloir dont la visite était en cours au moment de notre départ.

La partie de la subdivision de Yaoundé qui est au sud de la route de Yaoundé à Ngoulemakong et de Yaoundé à Akonolinga est habitée par les tribus Yaoundé, Bané et Mbida-Bané qui, au nord, sont en contact avec le grand foyer épidémique du Nyong. Pour cette raison, la maladie s'y est plus ou moins diffusée.

MBIDAS-BANÈS, BANÈS ET YAOUNDÈS. — Les Mbida-Banès habitent sur les pistes qui sont au nord du Nyong, à l'est de la subdivision.

En 1927, Maury y trouva 420 trypanosomés sur 6.000 visités, soit 7 p. 100.

La tribu Bané s'étend au nord et au sud du Nyong, de Yaoundé à la frontière des subdivisions de Sangmélima et d'Elobowa. La population est d'environ 42.000 habitants.

En 1927, Maury visite dans la tribu 28.808 habitants au nord du Nyong et 9.480 au sud, soit en tout 38.288 personnes parmi lesquelles il trouve 643 trypanosomés au nord du Nyong (2,2 p. 100) et 182 au sud (1,9 p. 100).

Les villages les plus atteints sont naturellement ceux qui sont les plus rapprochés du foyer épidémique et à Nkolafamfa, qui en est très près et qui est l'un des plus gros groupements de la tribu, le coefficient d'infection est de 9,8 p. 100. Dans les autres villages, la morbidité est beaucoup moins élevée.

Dans les groupements riverains du Nyong et dans ceux qui sont au sud du fleuve, au voisinage de la subdivision d'Akonolinga, qui est alors très éprouvée, les taux d'infection n'atteignent nulle part 3 p. 100, et dans un grand nombre de villages situés plus à l'ouest la maladie est tout à fait inconnue.

La tribu Yaoundé habite aux alentours du chef-lieu et dans le sud-ouest de la subdivision, sur les deux rives du Nyong. Elle compte environ 90.000 âmes.

Nous avons vu que la maladie est épidémique dans les villages qui sont au nord et au voisinage de Yaoundé.

Dans les autres groupements de la tribu, la maladie était à peu près inconnue en 1927 et, sur 54.839 habitants visités, on ne trouva alors que 94 trypanosomés, soit moins de 0,2 p. 100.

Dans la plupart des cas, il s'agit d'ailleurs de malades qui se sont infectés en dehors de leurs villages, dans la zone contaminée.

Dans l'ensemble de ces trois tribus, et en dehors des villages Yaoundés voisins du chef-lieu, où la maladie est épidémique, on dépiste, en 1927, 4.154 malades sur 97.986 visités, soit 4,1 p. 100.

Nous avons alors essayé d'isoler tous les trypanosomés Banès et Yaoundés des groupements les moins contaminés dans des villages de ségrégation, mais nous n'y avons réussi que pour les malades qui habitaient au sud du Nyong, grâce à la collaboration très active de M. Bearth, qui commandait alors le poste de Vimeli et que nous sommes heureux de remercier ici. Un très beau village, aux abords largement déboisés, fut construit par les soins de cet agent de l'Administration, à quelques kilomètres de Vimeli. De vastes cultures vivrières furent faites à côté du village et 182 malades Banès y furent isolés et soignés.

En 1929 et 1930, Maury revisite les Mbidas-Banès et les Banès.

Chez les *Mbidas-Banès*, il visite 7.076 habitants, dont 375 anciens malades et trouve 61 nouveaux trypanosomés (0,9 p. 100).

Chez les *Banès* du sud du Nyong, dont les malades ont été isolés dans le village de ségrégation de Vimeli, il ne trouve que 27 nouveaux malades sur 9.482 visités, soit 1 p. 100.

Le résultat prophylactique est donc, dans ces deux points, très satisfaisant, mais il n'en est pas ainsi chez les Banès qui habitent au nord du Nyong et dont les malades n'ont pu être isolés.

Nous avons vu qu'en 1927 Maury y avait trouvé 643 malades (2,2 p. 100).

En 1929, il en découvre 704 nouveaux sur 25.585 visités. Depuis cette deuxième tournée, 123 ont été dépistés par le poste d'observation de Yaoundé, ce qui fait en tout 827 nouveaux trypanosomés (3,1 p. 100).

Cette augmentation de l'endémie est surtout marquée dans les villages qui sont à l'est de Yaoundé et elle se répercute dans les villages Yaoundés de Nkolessang, Aboms et Ayissi qui les séparent du chef-lieu.

f) SUBDIVISION D'AMBAM, CAMPO ET KRIBI.

Ces trois unités administratives sont au sud-ouest du territoire sur la frontière du Muni et du Gabon.

Bauguion les visite de septembre 1928 à mars 1929. Sur 33.633 habitants recensés dans les trois subdivisions, il en examine 26.609 parmi lesquels il découvre 180 trypanosomés (0,6 p. 100).

Cette région est donc encore à peine effleurée par la maladie.

g) GROUPEMENTS INDIGÈNES DE DOUALA ET DE BONABÉRI.

La population indigène de Douala vit dans des conditions de confort matériel et d'hygiène qui sont très supérieures à celles où se trouvent les gens de l'intérieur. Pour cette raison, la maladie du sommeil a peu de chances d'y faire beaucoup de victimes. Néanmoins, à plusieurs reprises, les médecins de Douala et, en particulier, Rousseau et Gustave Martin, en ont signalé des cas chez des gens qui n'avaient jamais quitté Douala.

En mars 1928, Bauguion et Monier y lancent un coup de sonde et trouvent 108 malades sur 25.688 habitants visités, soit 0,4 p. 100.

A Bonabéri, qui est en face de Douala, sur la rive droite du Vouri, Bauguion trouve 30 malades sur 3.556 visités, soit 0,8 p. 100.

Cette visite sommaire montre que la maladie du sommeil est endémique à l'embouchure du Vouri.

h) SUBDIVISION DE MBANGA.

Cette subdivision est à cheval sur la ligne du chemin de fer de Bonabéri à Nkongsamba. Seule la partie qui est contiguë à Bonabéri a pu être visitée.

Dans le courant de 1929, Bauguion constate que, sur 35 villages, 4 seulement sont indemnes de trypanosomés.

La plupart des autres renferment chacun un ou plusieurs malades, mais il s'agit de cas erratiques qui n'impliquent pas nécessairement l'existence de l'endémie. Par contre, la maladie est nettement endémique dans les villages Pongos de Bomono Mbengué et de Bouelébo et dans le village Bakoko de Yamikori, où on a trouvé respectivement 5, 7 et 10 trypanosomés.

Dans l'ensemble de la région, 70 malades ont été dépistés sur 8.931 visites (0,7 p. 100).

i) PLAINE DU MBO.

Cette plaine est une dépression alluviale et marécageuse qui est au pied des contreforts du Mont Manengouba. Elle fait partie du système hydrographique du Nkam, affluent du Vouri.

Les Mbos qui habitent cette plaine ont élu domicile au voisinage des crêtes qui bordent en demi-cercle cette immense cuvette. Ils sont là au contact des Elongs et des Bamilékès qui ont arrêté leur marche migratrice vers le nord.

En 1912, le médecin allemand Berke y découvre 25 trypanosomés.

En 1915, le Dr Pistner signale l'abondance des glossines (*Glossina palpalis* et *fusca*) dans cette région.

En 1925, Cartron y visite 516 habitants et y trouve 13 malades.

En 1929, Bauguion y examine 11.495 personnes, 3.508 de la tribu M'bo et 7.987 de la tribu Bamiléké. Chez ces derniers, il ne trouve que 5 trypanosomés, mais chez les 3.508 M'bos il en découvre 64, dont 52 nouveaux. A lui seul, le groupement de Santehou, qui est voisin du territoire placé sous mandat britannique, en renferme 37.

Nous sommes donc là en présence d'un ancien foyer de try-

panosomiase humaine, à évolution très lente, qui n'a aucune tendance à la forme épidémique.

Il serait intéressant d'étudier si son virus est bien le même que celui du Nyong ou si, au contraire, il ne se rapproche pas de celui de la Nigéria du sud que nos camarades anglais croient beaucoup moins actif.

Mortalité par trypanosomiase.

A maintes reprises, nous avons signalé que, dans les foyers de trypanosomiase, le traitement à l'atoxyl avait pour effet immédiat et constant de faire décroître la mortalité imputable à la maladie. Son taux descend rapidement au voisinage de 0; puis, au bout d'un temps variable qui est naturellement fonction de la virulence du foyer, il remonte progressivement jusqu'à un certain niveau qu'aucun médicament, hors la tryparsamide et peut-être le 270 Fourneau, n'est susceptible de modifier. Le 270 Fourneau ne fait partie que depuis peu de notre arsenal thérapeutique et nous n'en avons pas l'expérience, mais nous avons constaté très souvent l'action merveilleuse, à ce point de vue, de la tryparsamide. Dans les foyers très virulents, sur lesquels l'atoxyl n'agit plus, elle diminue la mortalité qui se stabilise très vite à un taux voisin et souvent inférieur au taux moyen de la mortalité générale.

Le contrôle des malades recensés nous a permis d'établir que, depuis le début de nos opérations prophylactiques au Cameroun, c'est-à-dire depuis dix ans, la maladie du sommeil n'avait fait que 27.155 victimes parmi les 128.984 malades que nous avons recensés, soit 21 décès pour 100 trypanosomés.

Nous avons pu également déterminer, dans la plupart des foyers, la mortalité par trypanosomiase pendant l'année qui a précédé la dernière visite. Sur 36 indices, 4 varient de 10 à 17,8 p. 100, 7 de 5 à 10 p. 100, mais 25 sont inférieurs à 5 p. 100.

Chez les Badjoués et les Djems de Lomié, où la maladie est exceptionnellement virulente, les taux de mortalité sont respectivement de 6,3, 7,6 et 16,8 p. 100 malades, mais dans les tribus des subdivisions de Yaoundé, Akonolinga, Abong-Mbang

et Bertoua, où la maladie est épidémique, ils varient de 2 à 4,5 p. 100.

Ils sont donc équivalents et souvent même inférieurs aux taux moyens de la mortalité générale.

On nous excusera de dire que nous sommes tout particulièrement fiers de ces résultats.

Influence démographique.

Notre campagne prophylactique n'a pas eu seulement pour effet de diminuer la mortalité; elle a eu aussi pour conséquence heureuse d'augmenter la natalité.

On sait que la maladie du sommeil est un facteur anticonceptionnel puissant et que sous son influence le chiffre des décès dépasse celui des naissances dans tous les foyers épidémiques et endémo-épidémiques.

Notre action a eu pour effet de diminuer peu à peu cet écart et finalement de renverser la formule démographique au bénéfice des naissances.

Nous ne pouvons pas nous vanter d'avoir obtenu partout un tel résultat, mais nous l'avons déjà enregistré avec une haute satisfaction dans plusieurs régions.

L'étude démographique des subdivisions d'Akonolinga, d'Abong-Mbang et de Doumé, qui fut publiée dans les *Annales de l'Institut Pasteur* de décembre 1924 (t. XXXVIII, p. 1053), montre que, dans la subdivision de Doumé, où la maladie n'était qu'endémique, le taux des naissances était égal à celui des décès; que dans la subdivision d'Abong-Mbang, où la morbidité moyenne était alors de 25,6 p. 100, l'excès des décès sur les naissances était de 3 p. 100 et que dans la subdivision d'Akonolinga, où la morbidité moyenne était de 42 p. 100, le taux de la mortalité générale dépassait de 7 p. 100 celui de la natalité.

Nos dernières prospections ont établi que, dans les foyers de Doumé et de Bertoua, le chiffre des naissances dépasse actuellement celui des décès et qu'à Abong-Mbang et à l'Akonolinga l'équilibre est sur le point d'être réalisé.

Et ainsi se trouve arrêtée la diminution de la population.

Il n'existe pas de preuve plus évidente de l'efficacité de notre intervention.

Résumé et conclusions.

La méthode prophylactique qui est en œuvre au Cameroun a pour premier objet de détruire le réservoir de virus en circulation, de maîtriser ainsi les foyers d'infection et d'empêcher leur extension.

Elle se propose en second lieu de guérir tous les malades curables.

Le diagnostic de la maladie est fait par la recherche du trypanosome dans le suc ganglionnaire et dans le sang.

La recherche des malades est pour nous l'acte fondamental de la prophylaxie.

Tous les habitants sans exception doivent être périodiquement visités. Cette intervention ne peut être confiée à des agents subalternes du service de prophylaxie et le médecin dirige lui-même les équipes de prospection.

Tous nos malades sont soignés très énergiquement par l'association des substances trypanocides les plus actives : l'atoxyl, la tryparsamide, le novarsénobenzol, l'émétique d'aniline, le moranyl et l'orsanine.

Il ne nous paraît pas indispensable de connaître la réaction méningée des malades, qui implique la rachicentèse et l'étude du liquide lombaire, pour prescrire le traitement.

L'action trypanocide, c'est-à-dire *prophylactique* du traitement, est contrôlée par l'examen du sang.

Toutes les régions contaminées ont été prospectées et tous les malades dépistés ont été soignés. Mais nous avons particulièrement concentré nos efforts sur les grands foyers du Centre et de l'Est-Cameroun.

Les limites de ces foyers ont été déterminées avec précision. Tous les malades rencontrés ont été pourvus d'une fiche sanitaire individuelle et immatriculés. Nous en tenons un contrôle extrêmement serré et ils sont périodiquement revisités et traités. Sous l'influence de ce traitement, les indices de morbidité nouvelle et de virus en circulation, qui sont les deux pierres de touche de l'efficacité de notre action, ont partout diminué considérablement.

Dans la subdivision de Yaoundé, la morbidité nouvelle tombe chez les Mvelés de 36 et 52 p. 100, en 1926-1927, à 0,9 et 1,3 p. 100, en 1930, et chez les Manguinass de 17,8, en 1928, à 0,04, en 1930.

A Akonolinga, elle passe de 42 p. 100, en 1922-1923 et 23,2 p. 100, en 1926-1927, à 2 p. 100, en 1930. Chez les Badjoués de Lomié, elle est tombée de 60 p. 100, en 1926, à 19,9 p. 100, en 1928 et à 4,1 p. 100, en 1930.

A Bertoua et à Deng-Deng, elle passe de 28,6 p. 100, en 1928, à 0,2 p. 100, en 1930.

Les indices de virus sont réduits dans les mêmes proportions et par voie de conséquence les risques d'infection.

Ces chiffres montrent que, dans tous les foyers, le fléau bat en retraite, ce qui ne veut pas dire qu'il est partout vaincu.

A côté de reculs rapides, il existe des zones de résistance où le mal se défend vigoureusement et même quelques rares points où il reprend l'offensive.

La lutte n'est donc pas finie, mais nos gains sont déjà considérables.

Dans plusieurs régions, naguère très infectées, le trypanosome est devenu une rareté.

Les grands sommeilleux disparaissent graduellement.

La mortalité par trypanosomiase a diminué notablement et son taux est souvent inférieur à celui de la mortalité générale des territoires indemnes.

La natalité augmente parallèlement et l'équilibre démographique, rompu par l'infection, se rétablit tout doucement.

En deux mots, la maladie du sommeil n'est plus au Cameroun un facteur important de mortalité, de dénatalité et de dépopulation.

Le Gérant : G. MASSON.

